

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H.P. Wolff)

NAHRUNGSEINFLÜSSE AUF DIE
LIPIDZUSAMMENSETZUNG
DER
MENSCHLICHEN GALLE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von
Tilman Hafner
aus Darmstadt

Mainz 1976

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H.P. Wolff)

NAHRUNGSEINFLÜSSE AUF DIE
LIPIDZUSAMMENSETZUNG
DER
MENSCHLICHEN GALLE



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von
Tilman Hafner
aus Darmstadt

Mainz 1976



Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H.P. Wolff)

NAHRUNGSEINFLÜSSE AUF DIE
LIPIDZUSAMMENSETZUNG
DER
MENSCHLICHEN GALLE



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von
Tilman Hafner
aus Darmstadt

Mainz 1976

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. E. Straub

1. Gutachter: Prof. Dr. H. J. Weis

2. Gutachter: Prof. Dr. K. Ewe



INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	EPIDEMIOLOGIE	1
1.1.1.	Häufigkeit des Gallensteinleidens	1
1.1.2.	Geographische Verteilung	1
1.1.3.	Ethnische Faktoren	1
1.2.	GALLENSTEINTYPEN	2
1.2.1.	Reine Cholesterolsteine	2
1.2.2.	Pigmentsteine	2
1.2.3.	Gemischte Cholesterolsteine	2
1.3.	PHYSIOLOGIE DER GALLE	3
1.3.1.	Funktionen der Galle	3
1.3.2.	Zusammensetzung der Galle	3
1.3.3.	Löslichkeitsgrenzen für Cholesterol	5
1.3.4.	Lithogener Index	6
1.4.	BILDUNG VON CHOLESTEROLGALLENSTEINEN	8
1.4.1.	Bildung von lithogener Galle	8
1.4.2.	Kristallisation	9
1.4.3.	Wachstum	9
1.4.4.	Erkrankungen mit erhöhtem Risiko der Cholelithiasis	10
1.5.	DIÄT UND GALLENSTEINE	11
1.5.1.	Tierexperimentelle Diätversuche	11
1.5.2.	Diäteinflüsse beim Menschen	12
1.5.2.1.	Polyensäurereiche Diät	12

1.5.2.2.	Cholesterolreiche Diät	13
1.5.2.3.	Kalorienaufnahme	14
1.5.3.	Ziele der eigenen Studie	15
2.	M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	16
2.1.	VERSUCHSPERSONEN	16
2.2.	DIÄTEN	16
2.2.1.	Periode I: Fett- und alkoholreiche Kost	18
2.2.2.	Periode II: Alkoholkarenz und fett- arme Kost	18
2.2.3.	Periode III: Fettreiche Kost und Alkoholkarenz	18
2.3.	ENTNAHMETECHNIK DER GALLENPROBEN	19
2.4.	ANALYSEN	19
2.4.1.	Cholesterol	19
2.4.2.	Phosphatide	21
2.4.3.	Gallensäuren	22
2.4.3.1.	Bestimmungsprinzip	22
2.4.3.2.	Reagentien	23
2.4.3.3.	Küvetten und Photometer	23
2.4.3.4.	Gallenprobenaufbereitung	24
2.4.3.5.	Analysenvorgang	24
2.4.3.6.	Eichkurven und Bestimmungsgrenzen	25
2.4.3.7.	Reproduzierbarkeit und Praezision	27
2.4.3.8.	Verdünnungsreihen und Wiederge- winnungsraten	27
2.4.3.9.	Beeinflussung der Messung durch Cholesterol	29

2.4.3.10.	Beeinflussung der Messung durch Bilivistan	30
2.4.3.11.	Zeitlicher Ablauf der enzymatischen Umsetzung	30
2.4.4.	Weitere Bestimmungen	31
2.5.	VERARBEITUNG DER DATEN	31
3.	ER G E B N I S S E	32
3.1.	ERGEBNISSE VOR DIÄTBEGINN	32
3.1.1.	Lipidkonzentrationen der Galle vor den Diätperioden (Spontanwerte)	32
3.1.2.	Serumcholesterolspiegel vor den Diätperioden (Spontanwerte)	33
3.2.	ERGEBNISSE NACH PERIODE I	33
3.2.1.	Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode I	34
3.2.2.	Serumcholesterolspiegel nach Periode I	34
3.3.	ERGEBNISSE NACH PERIODE II	35
3.3.1.	Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode II	35
3.3.2.	Serumcholesterolspiegel nach Periode II	35
3.4.	ERGEBNISSE NACH PERIODE III	36
3.4.1.	Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode III	36
3.4.2.	Serumcholesterolspiegel nach Periode III	37

3.5.	ÄNDERUNGEN DER ÜBRIGEN PARAMETER WÄHREND DER DIÄTPERIODEN	47
3.5.1.	Änderungen des pH-Wertes und der Ionenkonzentrationen der Galle	47
3.5.2.	Änderungen des Phospholipid- und Triglyzeridspiegels im Serum	48
4.	D I S K U S S I O N	62
5.	Z U S A M M E N F A S S U N G	74
6.	L I T E R A T U R V E R Z E I C H - N I S	75

1. EINLEITUNG

1.1. EPIDEMIOLOGIE

1.1.1. Häufigkeit des Gallensteinleidens

Die Zahl der Gallensteinträger wird auf 5,2 Mio. in der Bundesrepublik (1) und auf 15 Mio. in den USA geschätzt (2). In Mitteleuropa und den USA ist jede 5te Frau und jeder 10te Mann Gallensteinträger. Jährlich müssen sich in der BRD etwa 60 000 (3) und in den USA mehr als 300 000 Patienten der Cholezystektomie (4) unterziehen.

Die Krankenhauskosten, die durch das Gallensteinleiden verursacht werden, betragen in den USA fast 1 Bio. Dollar (4).

1.1.2. Geographische Verteilung

Die Cholesterolcholelithiasis scheint eine durch die Zivilisation beeinflusste Erkrankung zu sein. Menschen in hochzivilisierten Staaten wie den USA oder den Staaten Mitteleuropas haben mit 12 % eine höhere Morbidität als in Zentralasien, Mittelamerika oder Afrika mit 0 - 8 % (Lit. bei 1).

1.1.3. Ethnische Faktoren

Bei bestimmten Volksgruppen besteht eine extreme Häufung des Gallensteinleidens. Bei den Pima Indianern Nordamerikas erkranken 70 % aller über dreißigjährigen Stammesangehörigen (5).

Im Gegensatz dazu steht das sehr geringe Vorkommen bei Ostafrikanern mit 0,8 %, sowie das völlige Fehlen von Gallensteinen bei den Massai-Negern (Lit. bei 1).

1.2. GALLENSTEINTYPEN

Die Hauptbestandteile von Gallensteinen sind Cholesterol, Bilirubin sowie Kalziumsalze. In geringeren Mengen findet man auch Gallensäuren und Proteine, sehr selten Fettsäuren und Mukoproteine. Entsprechend dem Überwiegen des einen oder anderen Bestandteiles unterscheidet man 3 Typen von Gallensteinen.

1.2.1. Reine Cholesterolsteine

Die meist solitären Steine bestehen nur aus Cholesterol und geben keinen Spontanschatten im Röntgenbild. Etwa 10 % aller Steine gehören zu diesem Typ (6).

1.2.2. Pigmentsteine

10 % aller Gallensteine gehören dem Typ des Pigmentsteines an (6). Seine Hauptbestandteile sind Bilirubin, meist als Kalziumsalz, sowie eine Proteinmatrix. Ihre Entstehung wird mit einer bakteriellen Deglucurierung, die zum Ausfällen von wasserunlöslichem freiem Bilirubin führt, erklärt.

1.2.3. Gemischte Cholesterolsteine

Dieser Typ besteht zu mehr als 70 % aus Cholesterol, der Rest setzt sich aus Bilirubin, Kalziumsalzen und einer Proteinmatrix zusammen. Bei größerem Kalziumgehalt geben sie röntgenologisch einen Spontanschatten. 80 % aller Steine in Mitteleuropa und den USA können diesem Typ zugerechnet werden (Lit. bei 6). Deshalb konzentriert sich das wissenschaftliche Interesse hauptsächlich auf diesen Typ des Gallensteins.

1.3. PHYSIOLOGIE DER GALLE

1.3.1. Funktionen der Galle

Die Galle hat einerseits wichtige exkretorische Funktionen: Nahezu das gesamte Cholesterol, das den Körper via faeces verläßt, wird von der Galle ausgeschieden (etwa 700 mg pro die), außerdem das aus dem Hämoglobinabbau stammende Bilirubin. Ferner über die Galle ausgeschieden werden eine Reihe von körperfremden Substanzen wie Medikamente (als Glucuronide), Schwermetallionen (Kupfer, Zink, Quecksilber), Röntgenkontrastmittel und Farbstoffe, die als Leberfunktionsproben angewendet wurden.

Zum anderen spielt die Galle eine wesentliche Rolle bei der Resorption von Fetten aus dem Darm, indem die Gallensäuren als wirksame Detergentien mit den Fetten Mizellen bilden und so erst den wirksamen Zutritt von Lipasen ermöglichen. Zudem aktivieren die Gallensäuren die Pancreaslipase und hemmen die Magensaftsekretion.

1.3.2. Zusammensetzung der Galle

Normale menschliche Blasengalle besteht etwa zu 84 % aus Wasser, 11,5 % Gallensalzen, 3 % Lecithin, 0,5 % Cholesterol und nur ca. 1 % andere Bestandteile wie Gallenpigment, Proteine und Ionen (Lit. bei 7).

Reines Cholesterol ist in Wasser fast völlig unlöslich (8). In der Galle wird Cholesterol durch Gallensäuren und Lecithin in Lösung gehalten. Gallensäuren besitzen hydrophile Hydroxylgruppen und ein hydrophobes Steroidgerüst. Zusammen mit dem Lecithin bilden sie gemischte Mizellen, die Cholesterol in Lösung halten können.

Letztere kann man sich als scheibchenförmige Gebilde vorstellen, deren Peripherie von den hydrophilen Seiten der Gallensäuremoleküle gebildet wird, während sich im Inneren Lezithin und Cholesterol befinden, und zwar so, daß deren hydrophile Anteile der Oberfläche der gemischten Mizelle zugewandt sind (9). Auf diese Weise werden die hydrophoben Anteile der Gallensäuren, Phosphatide und des Cholesterols völlig von ihren hydrophilen Gruppen ummantelt.

Die Fähigkeit der Galle, wasserunlösliches Cholesterol in Lösung zu halten, ist begrenzt und hängt von den molaren Konzentrationen von Lezithin und Gallensäuren ab. Wird deren Lösungsvermögen für Cholesterol überschritten, so ist die Galle übersättigt, und das im Überschuß vorhandene Cholesterol wird auskristallisieren und ein 2-Phasengemisch (fest-flüssig) bilden, dessen flüssige Phase mit Cholesterol gesättigt ist. Ist dagegen nur wenig Cholesterol in der Galle gelöst, so ist sie untersättigt und kann noch Cholesterol - z.B. aus einem Cholesterolstein - in Lösung aufnehmen.

Admirand und Small (10) stellten die Konzentrationen der 3 Lipide in einem gleichseitigen Dreieck dar, an dessen Seiten der prozentuale Anteil, bezogen auf den Gesamtlipidgehalt in mmol/l, aufgetragen wird, da ja das Lösungsvermögen für Cholesterol von dem molaren Verhältnis von Gallensäuren zu Lezithin abhängt (Abb. I).

1.3.3. Löslichkeitsgrenzen für Cholesterol

Admirand und Small (10) untersuchten die maximale Cholesterollöslichkeit für Lösungen mit verschiedenem Verhältnis Gallensäuren zu Lecithin und leiteten daraus eine Sättigungslinie in dem von ihnen beschriebenen Dreieck ab. Sie definierten den Bereich unterhalb dieser Linie als Mizellare Zone, in der das Cholesterol unterschüttigt und völlig in Lösung ist, während Lösungen, deren Lipidzusammensetzung einen Punkt oberhalb dieser Linie ergibt, als gesättigte Lösungen bezeichnet werden. Diese Autoren fanden eine maximale Cholesterollöslichkeit im Bereich physiologischer Lecithin- und Gallensäurenkonzentrationen von 10 % der Gesamtlipidkonzentration.

Neiderhiser und Roth (11) sowie Swell et al. (12) fanden für physiologische Lecithin- und Gallensäurewerte eine ähnlich hohe maximale Cholesterollöslichkeit wie Admirand und Small (10), während Hegardt und Dam (13) sowie Holzbach et al. (14) und Mufson et al. (15) eine wesentlich niedrigere Löslichkeit fanden. Mufson et al., welche trotz einer anderen Meßmethode die Ergebnisse von Hegardt und Dam und Holzbach et al. bestätigten, wiesen darauf hin, daß die unterschiedliche physikalische Form, in welcher das Cholesterol zugesetzt wurde, sowie die meist zu kurze Äquilibrierungszeit die Ursachen für die stark divergierenden Ergebnisse sein könnten.

Carey und Small (16) bezeichneten Lösungen, die in die übersättigte Zone fallen, als labil, wenn ihre Kristallisation schnell erfolgte, und als metastabil, wenn die Kristallisation längere Zeit (über 8 h) benötigt. Die von Hegardt und Dam gefundene Linie ist die Äquilibriumslinie, welche die metastabile-labile Zone von der Zone der echten Äquilibration trennt.

Liegt die Lipidzusammensetzung nicht wesentlich über der Äquilibriumsgrenze, so ist ihr Zustand metastabil; es dauert längere Zeit und bedarf Nukleationskeime bis eine Kristallisation eintritt: heterogene Nukleation (15). Liegt die Zusammensetzung weit oberhalb der Äquilibriumsgrenze und nahe der kritischen Übersättigung, so ist der Lösungszustand des Cholesterols labil und die Kristallisation findet auch ohne Nukleationskeim rasch statt: homogene Nukleation (15).

1.3.4. Lithogener Index

Zur Bestimmung der Cholesterolsättigung der Galle und damit ihrer Neigung zur Steinbildung schlugen Metzger et al. (17) die Bestimmung des lithogenen Index vor. Dieser beschreibt das Verhältnis von aktuell in der Galle vorhandenem Cholesterol zu maximal löslichem Cholesterol bei konstantem Verhältnis Gallensäuren zu Lecithin, ausgehend von dem dreieckigen Koordinatensystem von Admirand und Small (10). Beträgt der Wert des lithogenen Index 1,0, so ist die Galle mit Cholesterol gesättigt. Liegen die Werte über 1,0, so besteht eine mit Cholesterol übersättigte Lösung, bei Werten unter 1,0 ist die Galle mit Cholesterol untersättigt. Die Bestimmung des lithogenen Index erfolgt graphisch im Dreieck von Admirand und Small mit den entsprechenden Lösungsgrenzen für Cholesterol (Abb. I).

Die etwas umständliche und ungenaue graphische Methode zur Bestimmung des lithogenen Index wurde von Thomas und Hofmann (18) durch eine elegante mathematische Methode ergänzt. Diese Autoren geben ein rechtwinkliges Koordinatensystem an und drücken die Sättigungsgrenze nach Admirand und Small (10) sowie die Äquilibriumsgrenze von Hegardt und Dam (13) und Holzbach et al. (14) als Parabelpolynom aus.

BERECHNUNG DES LITHOGENEN INDEX

Cholesterol : 0.72 mm/l $\hat{=}$ 4.97% = Ca

Gallensäuren : 10.6 mm/l $\hat{=}$ 72.7%

Phospholipide: 3.2 mm/l $\hat{=}$ 22.3%

Max. lösliches Cholesterol = Cm = 10.0%

LITH. INDEX = Ca : Cm = 0.49

-7-

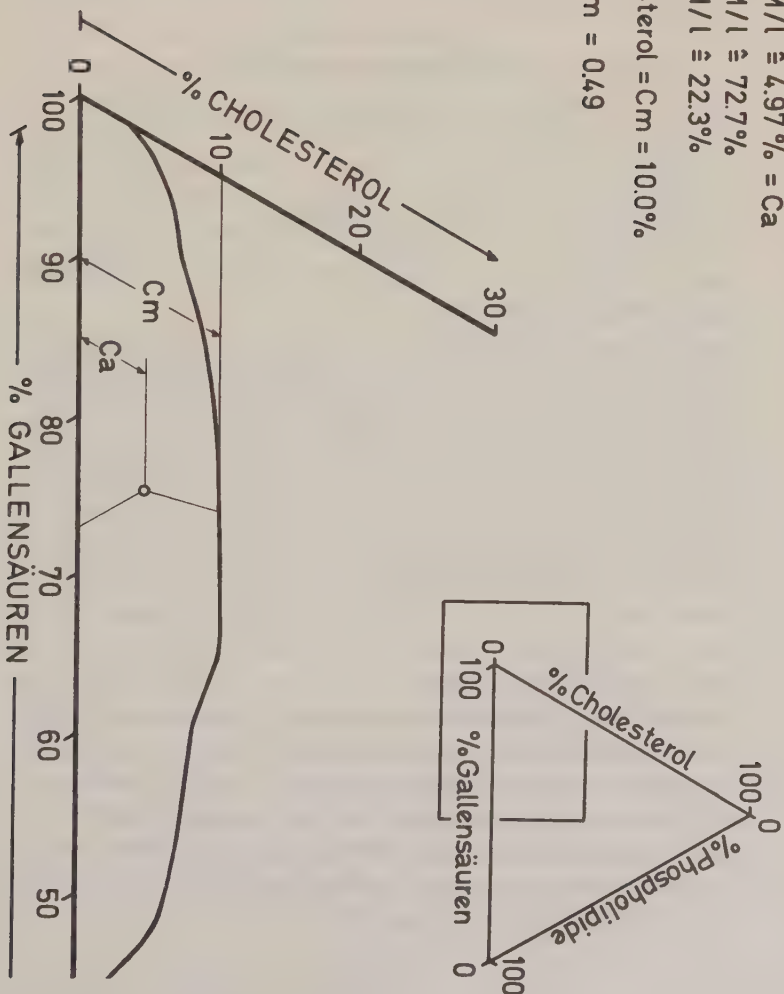


Abb. I

Ein Gallensäuren-Lezithin-Quotient wird in die Gleichung eingesetzt, die das maximal lösliche Cholesterol für diese Gallensäure-Lezithin-Kombination angibt. Mit Hilfe des aktuell in der Galle vorhandenen Cholesterols errechnet sich leicht der lithogene Index.

$$\text{Lith. Index} = \frac{\text{Aktuelle Cholesterolkonz. (\% Gesamtlip.})}{\text{Max. lösliches Cholesterol (\% Gesamtlip.)}}$$

1.4. BILDUNG VON CHOLESTEROLGALLENSTEINEN

Die Bildung von Cholesterolgallensteinen läßt sich in 3 Stadien einteilen:

1.4.1. Bildung von lithogener Galle

Eine Galle wird als lithogen bezeichnet, wenn sie mit Cholesterol übersättigt ist.

Der Ort der Bildung dieser lithogenen Galle wird in der Leber gesehen (19), da die Gallenblase die Lipidzusammensetzung der Galle nicht ändert, sondern nur eine Konzentrierung bewirkt (20).

Die Erhöhung des prozentualen Cholesterolanteils an den Gallenlipiden kann bedingt sein durch eine verminderte Sekretion von cholesterollösenden Lipiden und/oder erhöhten Sekretion von Cholesterol. Ein Beispiel für die verminderte Sekretion von lösenden Lipiden stellt die Erhöhung des lithogenen Index während des Fastens dar. Hierbei findet eine funktionelle Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs der Gallensäuren statt, da sich der größte Teil der Gallensäuren in der Gallenblase befindet. Die Gallensäuren, die im enterohepatischen Kreislauf zur Leber zurückkehren, sind das *primum movens* der Gallesekretion (21). Mit sinkendem Rückstrom von Gallensäuren zur Leber vermindert sich auch der Gallefluß.

Auch die Lezithin- und Cholesterolsekretion nimmt ab, jedoch sinkt die Cholesterolsekretion nicht in dem Maße wie die der anderen Lipide (21, 22), sodaß eine mit Cholesterol übersättigte Galle während des Fastens resultiert (23).

Bei Fettleibigen hingegen ist die Sekretion von lösenden Lipiden nicht verringert, die Sekretion von Cholesterol jedoch signifikant erhöht im Vergleich zu normalgewichtigen Personen (24).

Die Erhöhung der relativen Cholesterolkonzentration und damit der Lithogenität der Galle scheint eine notwendige, jedoch nicht alleinige Voraussetzung für die Bildung von Cholesterolsteinen zu sein, da erhebliche Schwankungen der Lithogenität über den Tag bestehen, die aber im Normalfall nicht zur Steinbildung führen (23).

1.4.2. Kristallisation

In diesem Stadium kristallisiert überschüssiges Cholesterol aus der lithogenen Galle aus. Meist sind dazu Kristallisationskerne erforderlich, die Gallepigment, auskristallisierte Gallensäuren, Mucoproteine oder Bakterien sein können. Ist die Kristallisation nicht schnell, so wird die Galle ins Duodenum ausgeschwemmt, bevor größere Kristallaggregate entstehen.

1.4.3. Wachstum

In diesem Stadium findet die eigentliche Bildung des Gallensteins statt. Es können sich dabei mehrere kleine Kristalle in einer organischen Matrix zusammenlagern, oder durch appositionelles Wachstum größer werden. Sehr kleine Steine von weniger als 1,0 mm Durchmesser werden meist symptomlos ins Duodenum ausgeschwemmt.

Es bedarf also zur Bildung größerer Steine weiterer Faktoren, welche die gebildeten Mikrokristalle in der Gallenblase zurückhalten. Dies könnten eine verminderte Gallenblasenmotilität, Durchmischungsprobleme in der Gallenblase, Infektion oder erhöhte Schleimsekretion sein (25).

1.4.4. Erkrankungen mit erhöhtem Risiko der Cholelithiasis

Patienten mit M. Crohn (26, 27) oder Ileumresektion haben gehäuft Cholesterolsteine, da die Gallensäuren vermindert resorbiert werden, und somit über einen erhöhten Gallensäurenverlust ein verminderter Gallensäurepool resultiert. Diese Erkrankungen kommen somit einer partiellen Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs gleich, was zu einer Erhöhung der Lithogenität der Galle führt.

Desgleichen wurden bei Patienten mit Pancreatitis, Diabetes mellitus, Fettsucht (Lit. bei 28) und Leberzirrhose (29) eine erhöhte Gallensteinfrequenz gefunden.

1.5. DIÄT UND GALLENSTEINE

Trotz zahlreicher Untersuchungen über die physico-chemischen und biochemischen Eigenschaften von lithogener Galle ist noch wenig darüber bekannt, welche biochemischen und metabolischen Vorgänge zu der Sekretion einer lithogenen Galle führen. Small (30, 31) nimmt an, daß die Gallensäuren Lecithin und Cholesterol aus der Zellmembran der Leberzelle herauslösen und daß Störungen im Stoffwechsel der Leber, die zu einem hohen Cholesterolanteil in der Leberzellmembran führen, die Ursachen für die Sekretion einer mit Cholesterol übersättigten Galle sind.

Nicolau und Mosbach (32) konnten in in vitro Experimenten an Leberproben von Gallensteinpatienten eine Erhöhung der Aktivität der β -Hydroxymethylglutaryl-CoA-Reduktase und eine Verminderung der Aktivität der 7α -Hydroxylase nachweisen, was zu einer verstärkten Cholesterol synthese und zu einer verminderten Gallensäuresynthese führt.

Mit epidemiologischen Studien, Tierexperimenten und Versuchen mit bestimmten Diäten wurde versucht, Hinweise auf die Ätiologie von Gallensteinen zu erhalten.

1.5.1. Tierexperimentelle Diätversuche

Prange und Christensen (33) erzeugten bei jungen Hamstern in über 80 % Cholesterolgallensteine, wenn sie die Tiere fettfrei mit Glukose und Casein ernährten. Die Zugabe von 2 % ungesättigten Fettsäuren verhinderte die Bildung von Cholesterolsteinen. Werden dagegen ältere Hamster mit der fettfreien Diät ernährt, so bilden sie keine Cholesterolsteine aus.

Caldwell und Levitsky (34) produzierten bei Mäusen in einem Monat in 60 % Cholesterolgallensteine mit einer Diät, der 1 % Cholesterol und 0,5 % Cholat zugesetzt wurde. Diese Autoren folgerten aus ihren Daten, daß die Gallenblase durch Absorption von Gallensäuren bei der Steinbildung mit beteiligt ist: es konnten auch histologische Veränderungen der Gallenblase festgestellt werden.

1.5.2. Diäteinflüsse beim Menschen

Ernährungseinflüsse scheinen sehr wesentlich bei der Entstehung von Gallensteinen beteiligt zu sein. So zeigte Wheeler et al. (35), daß Italienerinnen, die nach Australien ausgewandert waren, 4 mal häufiger Gallensteine bekamen, als in ihrem Heimatland wahrscheinlich war. Dies wurde auf eine plötzliche Änderung der Ernährungsgewohnheiten mit der Auswanderung zurückgeführt: nämlich ein signifikanter Anstieg des Fettverbrauches und eine signifikante Verringerung des Kohlenhydratverbrauches.

1.5.2.1. Polyensäurereiche Diät

Sturdevant (36) untersuchte 223 Autopsieprotokolle von Männern, die über lange Zeit eine polyensäurereiche und cholesterolareme Kost gegessen hatten, welche das Serumcholesterol erniedrigt. Er fand, daß Gallensteine signifikant häufiger waren bei Patienten, die die experimentelle Diät gegessen hatten im Vergleich zu denjenigen, die eine Normalkost bekommen hatten. Darüber hinaus fand er eine positive Korrelation zwischen der Zahl der experimentellen Mahlzeiten und der Häufigkeit von Gallensteinen.

Außerdem stellte er fest, daß fettleibige Männer wesentlich öfter Gallensteine hatten als Normalgewichtige. Der Anteil von Cholesterolsteinen wurde jedoch nicht erfaßt.

Grundy (37) untersuchte den Effekt von polyensäurereicher Diät auf die Cholesterolbilanz von Patienten mit Hypertriglyzeridämie. Er konnte zeigen, daß die Ausscheidung von Steroiden mit dem Stuhl bei 7 von 8 Patienten während der polyensäurereichen Kost signifikant erhöht war gegenüber der Periode mit Normaldiät. Desgleichen war bei 4 von 8 Patienten der relative Cholesterolanteil in der Blasengalle während der polyensäurereichen Diät höher als während der Normalkost. Die Zusammensetzung der Lebergalle zeigte jedoch keine Veränderung. Da der Gallensäurepool in den meisten Fällen erhöht war, muß die Erhöhung der Lithogenität der Galle durch eine Erhöhung der Cholesterolsekretion hervorgerufen sein, die auch bei 2 Patienten festgestellt werden konnte.

1.5.2.2. Cholesterolreiche Diät

DenBesten et al. (38) fanden eine Erhöhung der Lithogenität der Blasengalle nach einer 3 Wochen dauernden Belastung mit 750 mg Cholesterol täglich, und zwar zeigte sich ein signifikanter Anstieg des relativen Gehalts an Cholesterol und Phospholipiden bei einer starken Erniedrigung des Gallensäureanteils. Bei drei Patienten mit T-Drain zeigte sich nach der Cholesterolbelastung von 3 Wochen eine signifikante Erhöhung der Sekretion aller drei Lipide, jedoch war sie für Cholesterol höher als für die anderen Lipide, so daß die Erhöhung der Lithogenität unter der Cholesterolbelastung durch eine erhöhte Cholesterolsekretion zustande kommt.

1.5.2.3. Kalorienaufnahme

Sarles et al. (39) untersuchten 101 Cholesterolgallensteinträgerinnen sowie alters- und geschlechtsgleiche Kontrollpersonen mit ähnlichem Beruf auf ihre Ess- und Lebensgewohnheiten. Die Körpergröße und das Gewicht wichen in den beiden Gruppen nicht signifikant voneinander ab. Die Kalorienaufnahme war bei den Steinträgerinnen signifikant höher, die Nahrungszusammensetzung wich nicht ab. Die Arbeitszeit war signifikant kürzer, die Ruhezeit signifikant länger bei den Gallensteinpatientinnen gegenüber der Kontrollgruppe.

Dieselben Autoren (40) fanden bei Patienten nach Cholezystektomie wegen Cholelithiasis eine positive Korrelation zwischen der Kalorienaufnahme und der Cholesterolkonzentration in der T-Drain-Galle. Die Dauer der Diätperioden war aber unterschiedlich und es wurden unterschiedliche Mengen Galle dem enterohepatischen Kreislauf entzogen.

Bennion und Grundy (24) fanden die Cholesterolsättigung bei fettleibigen Patienten signifikant höher als bei alters- und geschlechtsgleichen Kontrollpersonen. Darüber hinaus fanden die Autoren, daß eine Gewichtsreduktion bei den Fettleibigen um durchschnittlich 25 % eine signifikante Erniedrigung der Cholesterolsättigung in der Blasengalle wie Lebergalle zur Folge hatte, bei unverändertem prozentualem Anteil von Phospholipiden und Gallensäuren. Diese Änderungen der prozentualen Anteile entsprechen einer signifikant erniedrigten Cholesterolsekretion bei unveränderten Gallensäuren- und Phospholipidsekretionsraten nach der Gewichtsreduktion.

Die Autoren vermuten, daß nicht die erhöhte Kalorienzufuhr bei den Fettleibigen allein zu der erhöhten Cholesterolsekretion führt, sondern daß noch ein weiterer Mechanismus beteiligt sein muß, da es ihnen nicht gelang, bei Normalpersonen mit ähnlich hoher Kalorienzufuhr eine entsprechend große Erhöhung der Cholesterolsekretion wie bei Fettleibigen hervorzurufen.

1.5.3. Ziele der eigenen Studie

Die Aufgabe dieser Studie war es, den Effekt einer Diät reich an Fett und Cholesterol unter dem Einfluß von Alkohol gegenüber einer völligen Alkoholkarenz und einer wesentlichen Reduktion der Fett- und Cholesterolzufuhr sowie einer Fettbelastung bei Alkoholkarenz auf die Lipidzusammensetzung der Galle zu untersuchen. Bei der Diätzusammensetzung wurde darauf geachtet, daß Alkohol, Fett und Cholesterol nicht in excessivem Maße verabreicht wurden, sondern daß die Aufnahme im Rahmen üblicher Schwankungen der Ess- und Trinkgewohnheiten in Mitteleuropa blieb.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. VERSUCHSPERSONEN

Die Versuchspersonen waren 6 normalgewichtige, gesunde Freiwillige, eine Frau und 5 Männer (Tab. I). Das mittlere Alter betrug 28 Jahre und reichte von 24 bis 38 Jahre. Das mittlere Gewicht war 66 kg. Keine der Versuchspersonen hatte Gallensteine, was mit Hilfe eines intravenösen Cholezystogramms mit Bilivistan nachgewiesen wurde. Dabei stellten sich bei allen Versuchspersonen die Gallenblase und die ableitenden Gallenwege normal dar. Nach der intravenösen Gabe von Cholezystokinin zeigte sich bei allen Versuchspersonen eine normale Kontraktion der Gallenblase.

Der Serumcholesterolspiegel lag bei allen Versuchspersonen unter 190 mg/100 ml, im Mittel $149,8 \pm 13,7$ mg/100 ml (± 1 SEM), der Serumtriglyzeridspiegel unter 150 mg/100 ml, im Mittel $68,49 \pm 17,7$ mg/100 ml.

Keine der Versuchspersonen war Hepatitis-B-Antigen-Träger; als Leberfunktionsproben wurden die SGOT, SGPT, GLDH, Gamma-GT und die alkalische Phosphatase bestimmt, und bei allen Personen Werte im Normbereich gefunden. Alle Versuchspersonen hatten ein normales Blut- und Differentialblutbild und eine normale BSG.

2.2. DIÄTEN

Die Diätperioden dauerten jeweils genau 20 Tage ; am 21. Tag wurde nach einer 12 stündigen Fastenperiode morgens um 8 Uhr die Gallenprobe entnommen. Gleichzeitig mit der Gallenprobe wurde eine Blutentnahme vorgenommen, und die Transaminasen, Gamma-GT, GLDH und die alkalische Phosphatase sowie das Serumcholesterol und die Serumtriglyzeride sowie -Phosphatide bestimmt.

Tabelle I: Klinische Daten der Versuchspersonen

Versuchs- person	Namensab- kürzung	Ge- schlecht	Gewicht (kg)	Idealge- wicht (%)
1	R. H.	männl.	78,2	106
2	T. H.	männl.	68,7	88
3	M. W.	männl.	62,0	89
4	K. R.	männl.	70,7	100
5	H. W.	männl.	76,0	103
6	I. G.	weibl.	47,8	100

Versuchs- person	Alter	Größe (cm)	TG i. S. (mg/100 ml)	CH i. S. (mg/100 ml)
1	26	183	73,7	183,2
2	24	188	27,9	167,5
3	25	178	45,8	109,3
4	26	179	55,1	150,8
5	38	183	56,5	108,6
6	28	157	151,8	179,7

TG = Triglyzeride

CH = Cholesterol

2.2.1. Periode I: Fett- und alkoholreiche Kost

In dieser Periode sollte der Einfluß einer fett- und cholesterolreichen Diät bei gleichzeitiger Einnahme von Alkohol auf die Lipidzusammensetzung der Galle untersucht werden.

Die Versuchspersonen bekamen täglich ein Ei, und zu der gewohnten Kost wurde auf das Frühstück und Abendbrot verteilt 100 g Butter gegessen. Abends tranken die Versuchspersonen 50 ml absoluten Äthylalkohol mit mindestens 200 ml Flüssigkeit verdünnt. Dies entspricht einer täglichen Cholesterolbelastung von über 500-600 mg, einer Fettbelastung von mindestens 100 g und einer Alkoholmenge, die in etwa 1 l Bier enthalten ist und als nicht hepatotoxisch gilt.

2.2.2. Periode II: Alkoholkarenz und fettarme Kost

In dieser Periode war den Versuchspersonen jeglicher Alkoholgenuß versagt. Außerdem durfte kein sichtbares Fett gegessen werden, als Brotaufstrich wurde Magerquark mit 0 % Fett gegeben. Auch fette Speisen wie Speck, Mayonnaise, Hirn und Käse über 20 % Fett i. TR. waren verboten. Die Kalorienaufnahme lag jedoch nicht wesentlich unter der von Periode I.

2.2.3. Periode III: Fettreiche Kost und Alkoholkarenz

Auch in dieser Periode war Alkoholgenuß untersagt. Es wurde zu der gewohnten Nahrung auf das Frühstück und Abendessen verteilt 100 g Butter gegessen. Fette Speisen waren erlaubt. Dies entspricht einer Mindestcholesterolaufnahme von 300-400 mg pro Tag, und einer Fettaufnahme von mehr als 100 g.

2.3. ENTNAHMETECHNIK DER GALLENPROBEN

Die Blasengalle wurde nach einer nächtlichen Fastenperiode morgens um 8 Uhr gewonnen. Eine röntgendichte Sonde wurde unter Bildwandlerkontrolle so ins Duodenum eingeführt, daß ihre Öffnung im unteren Teil der pars descendens duodeni lag. Die Sonde wurde am Mund fixiert. Durch intravenöse Injektion von 10 ml Cholezystokinin (75 Ivy Units) wurde die Gallenblase zur Kontraktion gebracht. Nach etwa 1-2 min wurden ca. 30-50 ml dunkelgrüne Blasengalle drainiert, durchmischt und bis auf ca. 5-10 ml für die Analyse wieder über die Sonde ins Duodenum zurückgeführt. Bis zur Analyse wurden die Gallenproben bei -15°C aufbewahrt. Vlahcevic et al. (41) zeigten, daß die Lipidzusammensetzung einer solchen Duodenaldrainage beim nüchternen Menschen mit der Lipidzusammensetzung der Blasengalle übereinstimmt.

2.4. ANALYSEN

Die Gallenproben wurden auf Zimmertemperatur erwärmt, 20 mal umgeschüttelt, und dann eine Probe für die Analyse entnommen. Alle Analysen wurden als Doppelbestimmungen ausgeführt.

2.4.1. Cholesterol

Das Cholesterol in den Galle- und Serumproben wurde nach der Methode von Sperry und Webb (42) bestimmt. 0,1 ml der Proben wurde mit 0,1 ml 80 %iger Kalilauge versetzt, H^3 -Cholesterol in 0,5 ml Äthanol als interner Standard hinzugegeben und 1 h bei 70°C im verschlossenen Schraubglas inkubiert.

Nach der Verseifung wurde die Lösung dreimal mit 4 ml Petroläther extrahiert, und die Petrolätherphase eingedampft. Der Rückstand wurde mit Aceton : Äthanol (1:1) aufgelöst, und mit HCl der PH in den saueren Bereich verschoben. Dann wurde Cholesterol mit Digitonin gefällt, das Präzipitat abzentrifugiert und der Überstand vorsichtig abgesaugt (42). Das Präzipitat wurde anschließend zweimal mit Aceton und einmal mit Diäthyläther gewaschen und dann getrocknet. Dieser Rückstand wurde mit 6ml FeCl₃-Essigsäurelösung unter Erwärmung in Lösung gebracht. Von dieser Lösung wurden 1 ml mit Instagel in Packardröhrchen zur Aktivitätsbestimmung gegeben, während der Rest mit 3 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt wurde (Kiliani-Reaktion). Die Extinktion des Farbkomplexes wurde bei 560 nm gemessen. Die Konzentration wurde durch Extinktionsvergleich mit einem Cholesterolstandard bestimmt, der bis auf die Verseifung und die Petrolätherextraktion genau wie die Proben behandelt wurde. Wir bestimmten den Standard dreifach. Cholesterolverluste bei der Spaltung von Cholesterolestern, bei der Petrolätherextraktion, bei der Digitoninfällung und bei der anschließenden Waschung mit Aceton und Diäthyläther wurden durch den internen Standard korrigiert, indem die Konzentration entsprechend dem Aktivitätsverlust des internen Standards hochgerechnet wurde.

2.4.2. Phosphatide

Da bei vielen Gallenproben unter der Lagerung ein Verlust an Phosphatiden durch enzymatische Spaltung durch die Phosphatasen des Pankreassekretes zu beobachten war, wurde der Gesamtphosphor in den Gallenproben bestimmt, und ein Nahrungsanteil von 10 % des Gesamtphosphors als anorganisches Phosphat abgezogen. Dieser Korrektur gingen vergleichende Untersuchungen bei 5 Patienten voraus, deren Duodenalgalle auf Eis gesammelt und sofort untersucht wurde. Beim Vergleich der nach Alkohol-Äther-Extraktion bestimmten Phospholipide mit den aus der Gesamtgalle bestimmten Phosphorwerten fanden sich Differenzen von bis ± 15 %. Um den anorganischen Anteil am Gesamtphosphor zu berücksichtigen, wurde deshalb generell 10 % von den Gesamtphosphorwerten subtrahiert und der Rest der Phosphatidkonzentration gleichgesetzt.

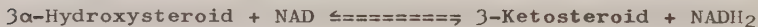
Der Gesamtphosphor wurde mit der Boehringer Biochemica Testkombination bestimmt: Nach Oxidation der Phosphatide mit Perchlorsäure und H_2O_2 im Heizblock bei 180-200°C wurde die Extinktion des gelben Phosphorkomplexes mit Ammoniumvanadat und Ammoniummolybdat in saurer Lösung photometrisch bestimmt, und die Konzentration durch Extinktionsvergleich mit einem Standard berechnet.

2.4.3. Gallensäuren

Zur Bestimmung der Gesamtgallensäuren in der Galle entwickelten wir eine neue, vereinfachte Methode, die sehr gut für die Anwendung im Routinelabor geeignet ist. Basierend auf der enzymatischen Bestimmung von 3α -Hydroxysteroiden mit der 3α -Hydroxysteroiddehydrogenase (43-45) wurden zahlreiche Methoden zur Bestimmung von Gallensäuren in der Galle und im Serum vorgeschlagen, die jedoch alle mit zeitraubenden Extraktionen verbunden sind. Bei der im Folgenden beschriebenen Methode wird keine Extraktion vorgenommen, so daß die Korrektur eines möglichen Gallensäureverlustes bei Extraktions- und Verdampfungsschritten durch einen internen Standard überflüssig wird. Die Extinktion von Substanzen in der Galle, welche ebenfalls bei 340 nm absorbieren, wird durch die Bildung der Extinktionsdifferenz vor Zugabe des Enzyms und nach Ablauf der Reaktion kompensiert.

2.4.3.1. Bestimmungsprinzip

Das Enzym 3α -Hydroxysteroiddehydrogenase katalysiert folgende Reaktion:



Das Reaktionsgleichgewicht läßt sich durch Erhöhung des pH-Wertes und Zugabe von Hydrazinsulfat als ketonbindender Substanz in Richtung auf das 3 -Ketosteroid verschieben, so daß die Umsetzung des 3α -Hydroxysteroids quantitativ erfolgt (45). Das in äquimolaren Mengen entstehende NADH_2 wird spektrophotometrisch bestimmt. Neben der gaschromatographischen Bestimmungsmethode der Gallensäuren hat die enzymatische Bestimmung sehr weite Anwendung gefunden (46-48).

2.4.3.2. Reagentien

Gereinigte 3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase (STDHMP, 0,7 U/mg) wurde von der Firma Worthington Biochemical Corporation, Freehold, N. J., USA, bezogen und bei -15°C gelagert. Die Enzymlösung (5mg Enzym in 10 ml aqua bidest.) wurde vor Versuchsbeginn jeweils frisch angesetzt.

NAD, Reinheitsgrad I (Boehringer Mannheim), wurde bei 4°C gelagert, und die NAD-Lösung (100 mg in 25 ml aqua bidest. = 6,03 mM/l) vor Versuchsbeginn frisch angesetzt. Die molare NAD-Konzentration im Reaktionsgemisch übertrifft die maximal messbare Gallensäurenkonzentration um das 4fache.

Der Glyzin-Hydrazinpuffer wurde entsprechend den Angaben von Schwarz et al. (48) hergestellt. Er enthielt

1 Mol Glyzin	= 75,07 g
0,4 Mol Hydrazinsulfat	= 52,05 g
5,57 mMol Dinatrium-EDTA	= 2,072 g

pro 1000 ml aqua bidest. Der pH-Wert wurde mit kristalliner NaOH auf 9,4 eingestellt, und der Puffer bis zu seiner Verwendung in kleineren Portionen bei -15°C aufbewahrt.

Exakt 538,20 mg Natriumcholat (MG 430,56) wurden in 250 ml 0,05 n NaOH aufgelöst und als Standard (5 mM/l) verwendet. Weitere Standardlösungen (0,5 - 1,0 - 1,5 - 2,0 - 3,0 - 4,0 mM/l) wurden durch Verdünnen des 5 mM/l Standards mit 0,05 n NaOH hergestellt.

2.4.3.3. Küvetten und Photometer

Wir führten alle Messungen in Einmal-Mikroküvetten mit einer Schichttiefe von 10 mm (Sarstedt) aus, da das Reaktionsvolumen nur 1,45 ml betrug.

Fertigungsbedingte Schwankungen der Leerextinktion der Mikroküvetten wurden durch die Bildung der Extinktionsdifferenz vor Zugabe des Enzyms und nach Ablauf der Reaktion kompensiert. Zusätzlich achteten wir darauf, daß nur Küvetten aus einer Packung für eine Messerie verwendet wurden. Die photometrische Messung führten wir mit einem Zeiss Spektralphotometer (Modell PMQ II) mit Mikroküvetteneinrichtung aus.

2.4.3.4. Gallenprobenaufbereitung

Die tiefgefrorenen Gallenproben wurden auf Zimmertemperatur erwärmt, 20 mal durchgeschüttelt, und einige Milliliter durch ein Glasfaserfilter und anschließend durch ein Millipore-Filter der Porengröße $0,22 \mu\text{m}$ filtriert. Durch dieses Vorgehen ändert sich die Konzentration der Gallensäuren nicht, es wird aber eine homogenere Flüssigkeit gewonnen, die besser pipettiert werden kann, so daß sich dadurch der Pipettenfehler verringert. Jede Gallenprobe wurde im Verhältnis 1:11 verdünnt, jede Verdünnung wurde doppelt angesetzt und dann analysiert. Besonders konzentrierte Proben verdünnten wir im Verhältnis 1:21 mit aqua bidest. Bei einer Verdünnung von 1:11 liegt im endgültigen Reaktionsgemisch eine Gallenverdünnung von 1:319 vor.

2.4.3.5. Analysenvorgang

In die Mikroküvetten wurden 1 ml Glyzin-Hydrazinpuffer und 0,2 ml NAD-Lösung pipettiert. Zum Leerwert wurden 0,05 ml 0,05 n NaOH, zum Standard 0,05 ml des 3 mM/l-Standards und zu den Proben 0,05 ml der Gallenverdünnungen pipettiert. Der Standard wurde für jeden Probenansatz (10-21 Doppelbestimmungen) 4fach bestimmt.

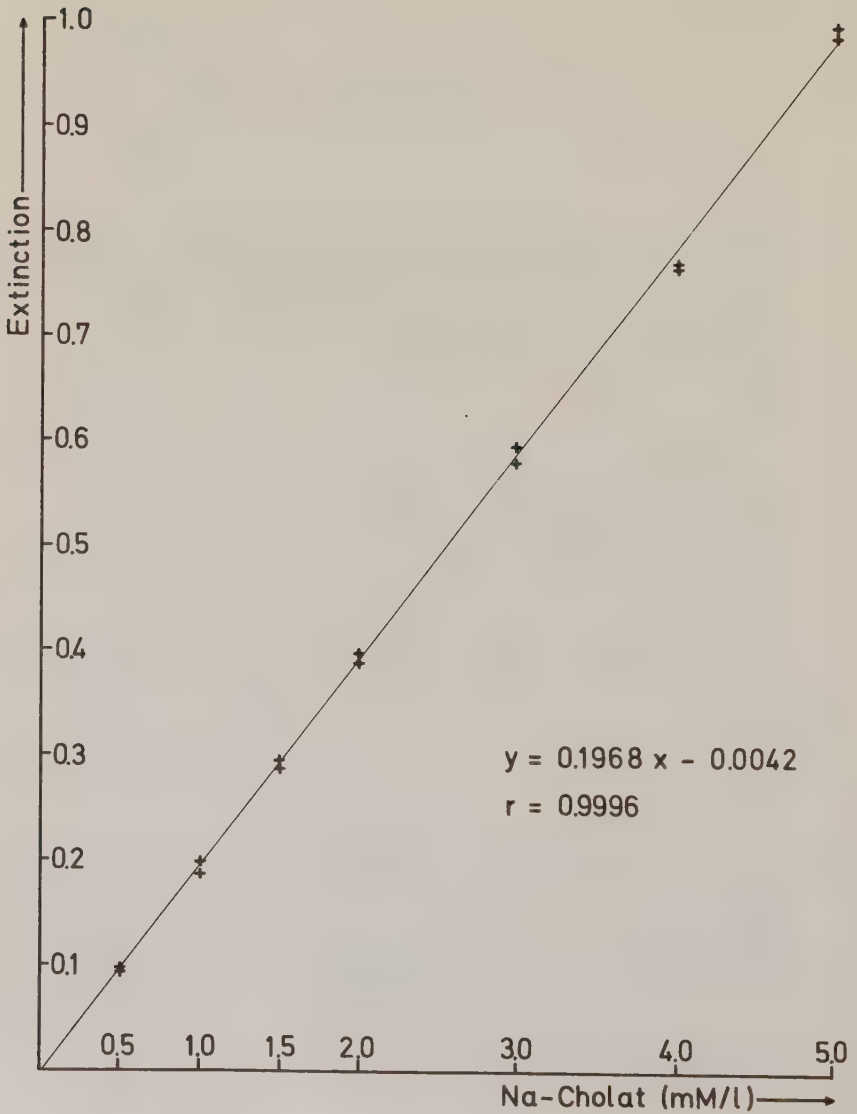
Nach gründlicher Durchmischung aller Proben wurde die Extinktion E_1 gegen den Leerwert bestimmt. Dann wurde zu allen Mikroküvetten 0,2 ml Enzymlösung gegeben, wieder gemischt und anschließend 40 min lang bei 26°C in einem Trockeninkubator inkubiert (46). Eine Inkubation im Wasserbad verbot sich, da durch das Trockenreiben der Küvetten eine Extinktionserhöhung beobachtet wurde, die auf mechanische Veränderungen der Küvettenoberfläche zurückzuführen ist. Der pH-Wert der Reaktionslösung in der Mikroküvette betrug 9,31. Nach der Inkubation bestimmten wir die Extinktion E_2 gegen den Leerwert und bildeten die Extinktionsdifferenz $E_2 - E_1$. Durch Vergleich der Extinktionsdifferenz mit der des Standards wurde die Konzentration bestimmt und mit dem Verdünnungsfaktor korrigiert.

2.4.3.6. Eichkurven und Bestimmungsgrenzen

Die 10 Eichkurven zeigen eine strenge Linearität über den ganzen photometrisch messbaren Bereich. Die Nacholatstandardlösungen von 0,5 - 5,0 mM/l ergeben Extinktionen von 0,095 - 0,995. Die Eichkurven liefen durch den Nullpunkt des Koordinatensystems. Die Regressionsanalyse einer typischen Eichkurve mit 7 Standardlösungen (0,5 - 1,0 - 1,5 - 2,0 - 3,0 - 4,0 - 5,0 mM/l) mit Doppelbestimmungen ergab folgende Gleichung im Koordinatensystem: $y = E$, $x = \text{Konzentration in mM/l}$: $y = 0,1968 x - 0,004$, der Korrelationskoeffizient für diese Eichkurve war $r = 0,9996$ (Abb.II).

Die minimale und maximale bestimmbare Gallensäurekonzentration verhält sich wie 1 : 10. Mit der Routineverdünnung von 1 : 11 fielen 177 von 208 untersuchten Proben (= 85 %) in einen Extinktionsbereich, der photometrisch sicher zu bestimmen war ($E = 0,09 - 1,090$), d. h. von 100 Proben erfordern lediglich 15 eine wiederholte Analyse mit entsprechender Verdünnung.

Abb. II: Eichkurve für den Natriumcholatstandard



Die kleinste, mit dieser Bestimmungsmethode sicher nachweisbare Gallensäurenkonzentration beträgt 45 μM /100 ml oder ca. 18,5 mg/100 ml, das entspricht einem Absolutbetrag von 22,5 nM Gallensäuren in der Reaktionslösung. Es ist überdies leicht möglich, durch Zugabe von 0,1 ml Gallenprobe anstatt 0,05 ml die untere Messgrenze auf 22 μM oder 9,2 mg/100 ml zu senken.

2.4.3.7. Reproduzierbarkeit und Praezision

Es wurde an 15 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 4 mal die Extinktion des 3,0 mM/l-Standards bestimmt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Die 60 Messungen ergaben mit einem Mittelwert von $0,5986 \pm 0,0013$ (SEM) nur sehr geringe Schwankungen. Der Variationskoeffizient betrug 1,7.

Bei 217 Doppelbestimmungen ergab sich eine mittlere Abweichung der Doppelwerte vom Mittelwert von 3,60 %.

2.4.3.8. Verdünnungsreihen und Wiedergewinnungsraten

Um den möglichen Einfluß von Substanzen in der Galle auf die enzymatische Umsetzung der Gallensäuren zu untersuchen, wurden Verdünnungsreihen von Gallenproben angesetzt, und die Recovery-Raten von zugesetzten Standardlösungen bestimmt. Die Gallenproben wurden im Verhältnis 1:6, 1:11, 1:21 verdünnt und doppelt bestimmt. In dem Koordinatensystem: Extinktion der Verdünnung gegen den Verdünnungsgrad in Prozent ergaben die Extinktionen Geraden, welche mit guter Näherung durch den Nullpunkt und streng linear verliefen. Der Korrelationskoeffizient betrug 0,9994.

Zur Bestimmung der Recovery-Raten wurden zu den Gallenverdünnungen wie oben angegeben Standardlösungen der Konzentrationen 1 und 5 mM/l im Verhältnis 1:1 zugesetzt und anschließend die Extinktion bestimmt. Jede Probe wurde doppelt angesetzt und die Recovery aus der Extinktion des Gemischs (E_G), der Standardlösungen (E_S) und der Verdünnungen (E_V) nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{2 E_G - E_V}{E_S} \times 100$$

Für 12 Proben ergab sich eine Durchschnittsrecovery von 97,64 % $\pm$ 2,12 % (SEM).

Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß in der menschlichen Galle keine Substanzen vorhanden sind, welche bei entsprechender Verdünnung noch in der Lage wären, die enzymatische Umsetzung der Gallensäuren zu hemmen oder die photometrische Bestimmung des NADH₂ zu beeinflussen. Weiterhin kann daraus gefolgert werden, daß in der Galle keine Enzymsubstratsysteme existieren, die neben der 3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase zugesetztes NAD zu NADH₂ oder gebildetes NADH₂ zu NAD umsetzen und somit die Messung beeinflussen.

2.4.3.9. Beeinflussung der Messung durch Cholesterol

Cholesterol stellt ebenfalls ein 3-Hydroxysteroid dar, jedoch steht die OH-Gruppe in 3 β -Stellung. Um den Umsatz von Cholesterol durch die 3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase oder durch eventuell vorhandene kleine Verunreinigungen mit 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase zu prüfen, wurde zu menschlicher Galle zum einen Cholesterol in Äthanol-Aceton (1:1) zugesetzt, so daß die zugesetzte Cholesterolmenge einer Konzentrationserhöhung in der Ausgangsgalle von 100 mg/100 ml betrug, zum anderen Äthanol-Aceton ohne Cholesterol. Die Differenz der Extinktionen beider Proben war nicht größer als die mittlere Differenz zwischen Doppelbestimmungen (3,6 %). In einem zweiten Versuch wurde kristallines Cholesterol durch Erwärmen und Schütteln über 1 Stunde in einem galleähnlichen Gallensäuren-Lezithin-Gemisch (5,8 g Na-Cholat + 5,8 g Chenodesoxycholsäure + 6,0 g Lezithin auf 200 ml Ringer-Lösung) in Lösung gebracht, und die Extinktion im Vergleich zu dem cholesterol-freien Gemisch gleicher Konzentrationen gemessen. Die Extinktionen beider Lösungen unterschieden sich um 1,2 %, was die übliche Differenz zwischen Doppelbestimmungen unterschreitet.

Diese Ergebnisse lassen eine Umsetzung von Cholesterol durch die Hydroxysteroiddehydrogenase unwahrscheinlich erscheinen. Auch Turnberg et al. (46) fanden keine Oxidation des Cholesterols durch dieses Enzym.

2.4.3.10. Beeinflussung der Messung durch Bilivistan

Da die Gallenproben oft nach intravenöser Darstellung der Gallenblase gewonnen werden, war es nötig, einen möglichen Einfluß von jodhaltigem Kontrastmittel auf die Gallensäurebestimmung zu untersuchen. Dazu wurde menschliche Galle einmal mit Bilivistan und einmal mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 10:1 versetzt, und die Extinktion gemessen. Die beiden Proben unterschieden sich in ihrer Extinktion um 1,6 %, was unter der mittleren Abweichung von Doppelbestimmungen liegt, so daß eine Beeinflussung unwahrscheinlich ist.

2.4.3.11. Zeitlicher Ablauf der enzymatischen Umsetzung

Es wurde der zeitliche Ablauf der enzymatischen Umsetzung der Cholsäure und der Chenodesoxycholsäure (Fa. Falk), die zusammen den Hauptanteil der Gallensäuren bilden, untersucht. Die Extinktion wurde alle 30 sec gegen den Leerwert gemessen. Wir fanden, daß bei 23°C die enzymatische Umsetzung für 5 mM/l-Standardlösungen der Cholsäure und der Chenodesoxycholsäure innerhalb der ersten 14 min vollständig abgelaufen war. Dabei zeigte sich keine Differenz im zeitlichen Ablauf und der Höhe der Extinktionen der beiden Gallensäuren. Nach Erreichen der maximalen Extinktion sank diese geringfügig langsam ab, hatte aber 60 min nach Enzymzugabe noch 98,5 % des maximalen Wertes. Die errechnete spezifische Aktivität der 3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase entsprach der Herstellerangabe und war für die Chenodesoxycholsäure etwas geringer als für die Cholsäure. Es reichen demnach die Inkubationsbedingungen (26°C, 40 min) für eine vollständige Umsetzung der Gallensäuren aus.

2.4.4. Weitere Bestimmungen

Des Weiteren wurden in den Gallenproben der pH-Wert und die Konzentrationen von Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid und Phosphat bestimmt.

Im Serum wurden neben Cholesterol noch Phospholipide, Triglyzeride und anorganisches Phosphat bestimmt.

2.5. VERARBEITUNG DER DATEN

Die Gallenlipide wurden in Prozent der Gesamtlipide entsprechend Admirand und Small (10) ausgedrückt. Der lithogene Index wurde nach der Definition von Metzger et al. (17) mit der Gleichung von Thomas et al. (18) berechnet, wobei die Lösungsgrenze von Hegardt und Dam (13) zugrunde gelegt wurde.

Die statistische Bewertung wurde mit dem Student-t-Test für gepaarte Werte vorgenommen.

3. E R G E B N I S S E

3.1. ERGEBNISSE VOR DIÄTBEGINN

Vor den Diätperioden waren bezüglich der Nahrungszusammensetzung keine Auflagen gemacht worden. Ein Großteil der Versuchspersonen nahm mittags die allgemeine Krankenhauskost zu sich, Alkohol wurde, wenn überhaupt, vor Versuchsbeginn sehr mäßig getrunken. Man kann diese Werte somit als Spontanwerte bezeichnen.

3.1.1. Lipidkonzentrationen der Galle vor den Diätperioden (Spontanwerte)

Die Absolutkonzentrationen von Cholesterol, Gallensäuren und Phospholipiden in der Duodenalgalle streuten sehr weit. Die höchsten und niedrigsten Spontanwerte betragen:

6,34 mM/l und 0,95 mM/l Cholesterol
46,5 mM/l und 4,80 mM/l Gallensäuren
12,9 mM/l und 2,0 mM/l Phospholipide

Drückt man die molaren Konzentrationen der einzelnen Lipide in Prozent der Gesamtlipidkonzentration der Galle aus, so ist die Streuung der Werte geringer:

4,3 % und 12,1 % Cholesterol
61,9 % und 78,5 % Gallensäuren
17,1 % und 26,7 % Phospholipide

Die Ursache für die weite Streuung der Absolutkonzentrationen der Gallenlipide in der Duodenalgalle liegt in dem unterschiedlichen Grad der Verdünnung der Blasengalle mit Pancreassekret, Magensaft und Duodenalsekret.

Deshalb erscheint die Angabe von Absolutkonzentrationen wenig sinnvoll, so daß lediglich die relativen Konzentrationen angegeben werden.

Die Mittelwerte der 3 Gallenlipide vor Diätbeginn (Spontanwerte) betragen: ($\pm$ 1 SEM)

Cholesterol: $7,86 \pm 1,24$ %

Gallensäuren: $70,29 \pm 2,38$ %

Phospholipide: $21,84 \pm 1,52$ %

Die Spontanwerte der 3 Gallenlipide (Tab. II - IV, Abb. III, IV) streuten stärker um den Mittelwert als die Werte nach den anderen Diätperioden, was aus der hohen Standardabweichung des Mittelwertes ersichtlich ist.

Die aus den 3 Lipiden errechnete Cholesterolsättigung ist in Tab. V und Abb. V angegeben. Die Werte reichen von 0,78 bis 1,56 bei einem Mittelwert von 1,16. Die Hälfte aller Versuchspersonen zeigten spontan einen lithogenen Index größer als 1,0.

3.1.2. Serumcholesterolspiegel vor den Diätperioden (Spontanwerte)

Die Spontanwerte des Serumcholesterols vor den Diätperioden sind der Tab. VI und der Abb. VI zu entnehmen. Die Werte schwankten zwischen 108,6 und 183,2 mg/100 ml. Der Mittelwert liegt mit 150 mg/100 ml im unteren Normbereich.

3.2. ERGEBNISSE NACH PERIODE I

In der 3 Wochen dauernden Periode I wurde eine Fettbelastung von 100 g Butter und einem Ei und eine Alkoholbelastung von 50 ml absolutem Äthanol pro Tag durchgeführt. Die Cholesterolbelastung betrug mindestens 500-600 mg, die Fettbelastung mehr als 100 g pro Tag.

3.2.1. Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode I

Die Fett-Cholesterol-Alkoholbelastung (I) führte zu einer signifikanten Verminderung des Cholesterolanteils in der Galle um durchschnittlich fast 40 % gegenüber den Spontanwerten. Der Mittelwert (Tab. II, Abb. III) verminderte sich von 7,86 % vor Versuchsbeginn auf 4,74 % nach Periode I. Bei Versuchspersonen mit initial hohen Werten fiel die Cholesterolkonzentration stärker ab als bei solchen mit initial niedrigen Werten.

Die relative Gallensäurekonzentration stieg bei allen Versuchspersonen bis auf eine unter der Diät von Periode I an. Der Mittelwert (Tab. III) betrug 73,73 % nach Periode I gegenüber 70,29 % vor Versuchsbeginn. Dieser Anstieg der Gallensäurenkonzentration (Abb. IV) war signifikant ($p < 0,05$).

Die Veränderungen der Phospholipide in der Galle (Tab. IV) waren sehr uneinheitlich, so daß sich keine signifikante Änderung ergab. Der Mittelwert blieb mit 21,52 % gegenüber 21,84 % vor Versuchsbeginn konstant.

Der lithogene Index (Tab. V, Abb. V), als Summenparameter aus den 3 Gallenlipiden, verminderte sich während der Fett- und Cholesterolbelastung unter Alkoholeinfluß (I) um 36,7 % von 1,16 vor Versuchsbeginn auf 0,73. Diese starke und bei allen Versuchspersonen nachweisbare Verminderung der Cholesterolsättigung war mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 2 % statistisch signifikant.

3.2.2. Serumcholesterolspiegel nach Periode I

Im Gegensatz zu der eindrucksvollen Verminderung der Cholesterolsättigung der Galle unter der Diät von Periode I blieben die Serumcholesterolwerte (Tab. VI, Abb. VI) für alle Versuchspersonen praktisch konstant.

3.3. ERGEBNISSE NACH PERIODE II

In der Periode II (Karenzperiode) wurde möglichst wenig Fett verzehrt. Alkohol und Eier waren verboten. Somit lag die Cholesterolzufuhr mindestens 500 mg und die Fettzufuhr über 86,5 g niedriger als in der vorangegangenen Periode.

3.3.1. Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode II

Trotz der starken Verminderung der Cholesterolzufuhr waren die Veränderungen der relativen Cholesterolkonzentration bei den einzelnen Versuchspersonen uneinheitlich und gering (Tab. II, Abb. III). Der Mittelwert änderte sich mit 5,06 % gegenüber 4,74 % nach Periode I kaum.

Ähnliches gilt für das Verhalten der Gallensäuren unter der Karenzperiode (II) (Tab. III, Abb. IV), auch hier ergab sich keine signifikante Änderung.

Die Phospholipidkonzentrationen schwankten zu Teil erheblich, der Mittelwert (Tab. IV) änderte sich jedoch kaum unter der Diät von Periode II.

Entsprechend den geringen Änderungen der 3 Gallenlipide zeigte auch der lithogene Index (Tab. V, Abb. V) keine einheitliche Tendenz. Der Mittelwert lag mit 0,80 kaum über dem von Periode I mit 0,73.

3.3.2. Serumcholesterolspiegel nach Periode II

Im Gegensatz zur fehlenden Reaktion der Gallenlipide, besonders des Cholesterols, auf die starke Reduzierung der Fettbelastung zeigte der Serumcholesterolspiegel (Tab. VI, Abb. VI) bei allen Versuchspersonen eine Verminderung, die im Mittel 17 % betrug und mit einem $p < 0,01$ signifikant war.

3.4. ERGEBNISSE NACH PERIODE III

In Periode III (Fettbelastung) wurde eine fettreiche Diät eingehalten: Es wurden 100 g Butter täglich gegessen, Alkohol und Eier waren weiterhin verboten. Die Fettaufnahme betrug mindestens 100 g, die Cholesterolaufnahme mindestens 300-400 mg täglich. Während die Perioden I und II unmittelbar aufeinander folgten, lagen zwischen Periode II und III 3 Monate ohne Diätvorschriften.

3.4.1. Lipidkonzentrationen der Galle nach Periode III

Die relative Cholesterolkonzentration (Tab. II, Abb. III) zeigte bei allen Versuchspersonen nach Periode III einen deutlichen Anstieg gegenüber der Periode II. Der Mittelwert stieg signifikant um 45 % von 5,06 % auf 7,34 % nach Periode II. Trotz dieses deutlichen Anstiegs erreichte die mittlere Cholesterolkonzentration nach Periode III nicht das Ausgangsniveau der Spontanwerte.

Die Gallensäurewerte (Tab. III, Abb. IV) verminderten sich bei allen Versuchspersonen, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß, während der Fettbelastung und Alkoholkarenz (III). Der Mittelwert lag mit 68,68 % signifikant niedriger als nach Periode II mit 74,11 %.

Die Phospholipidkonzentrationen zeigten nach der Fettbelastung und Alkoholkarenz bei 4 von 6 Versuchspersonen einen Anstieg. Der Anstieg der Mittelwerte von 20,8 % nach Periode II auf 23,9 % verfehlte jedoch nur knapp die Signifikanzgrenze.

Parallel mit dem Verhalten des relativen Cholesterolanteils unter der Diät von Periode III stieg auch der lithogene Index (Tab. V, Abb. V) bei allen Versuchspersonen mit einer Ausnahme an. Dieser Anstieg von 0,80 auf 1,03 war signifikant ($p < 0,05$).

3.4.2. Serumcholesterolspiegel nach Periode III

Unter der Fettbelastung und Alkoholkarenz reagierte der Serumcholesterolspiegel gleichsinnig wie die Cholesterolkonzentration der Galle mit einem erheblichen Anstieg (Tab. VI, Abb. VI). Mit 40,1 % war dieser Anstieg von 122,5 mg/100 ml nach Periode II auf 172,7 mg/100 ml bei einem $p = 0,001$ statistisch hoch signifikant.

Tabelle II: Einfluß der Diätperioden auf den Cholesterolgehalt der Galle

C H O L E S T E R O L (% der Gesamtlipide)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	6,79	3,77	3,43	6,48
2	12,13	4,95	4,97	10,69
3	4,30	3,80	4,51	6,28
4	4,91	3,30	4,35	6,13
5	9,39	5,10	6,35	6,57
6	9,65	7,54	6,79	7,91
Mittel-				
wert	7,86	4,74	5,06	7,34
SEM	1,24	0,63	0,52	0,71
Differenz	- 3,12	+ 0,32	+ 2,28	
T-Wert	3,22	0,98	2,89	
Signi-				
fikanz	p < 0,025	NS	p < 0,05	

Abb. III: Cholesterol in der Galle (% der Gesamtlipide)

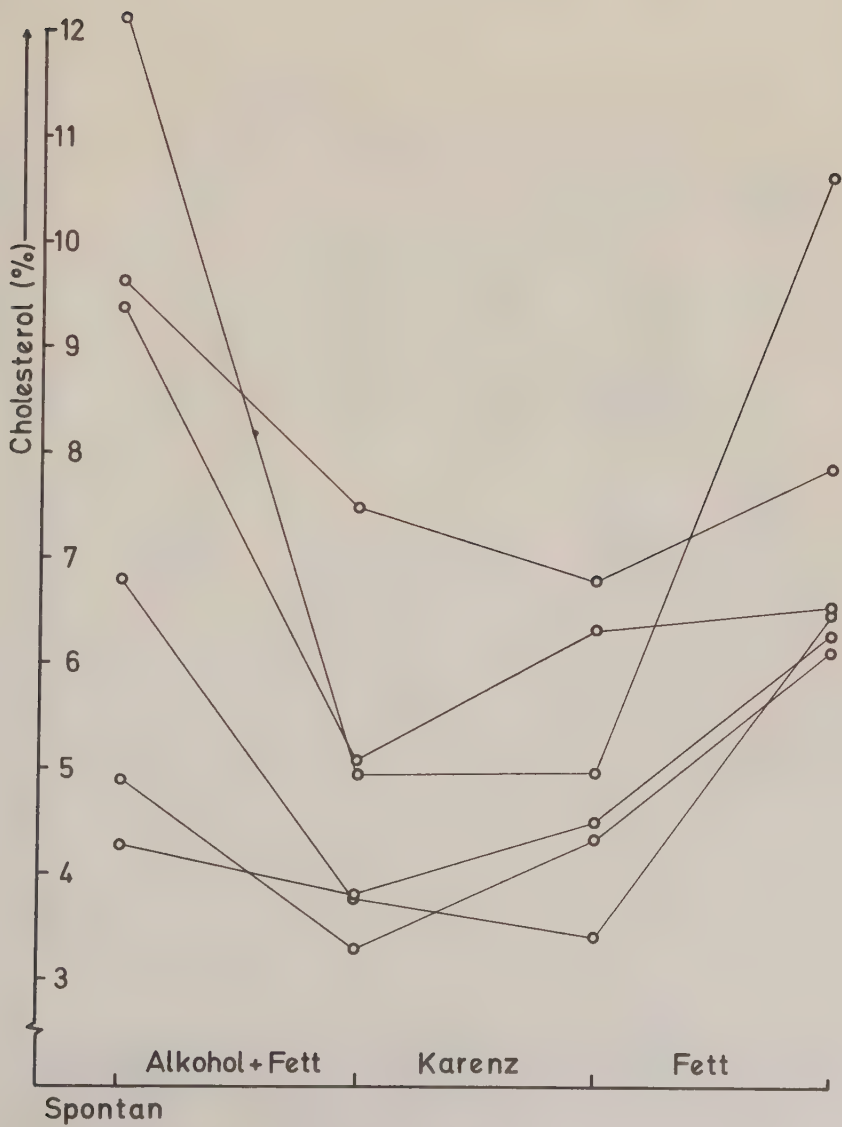


Tabelle III: Einfluß der Diätperioden auf den Gallensäuregehalt der Galle

G A L L E N S Ä U R E N (% der Gesamtlipide)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	66,49	74,59	76,35	67,06
2	61,95	66,88	72,75	60,86
3	78,55	77,89	72,46	71,17
4	74,50	76,77	76,62	68,88
5	69,49	74,31	75,24	73,09
6	70,77	71,95	71,26	71,03
Mittel- wert	70,29	73,73	74,11	68,68
SEM	2,38	1,60	0,91	1,77
Differenz	+ 3,44	+ 0,38	- 5,43	
T-Wert	2,68	0,25	2,75	
Signi- fikanz	p < 0,05	NS	p < 0,05	

Abb. IV: Gallensäuren in der Galle (% der Gesamtlipide)

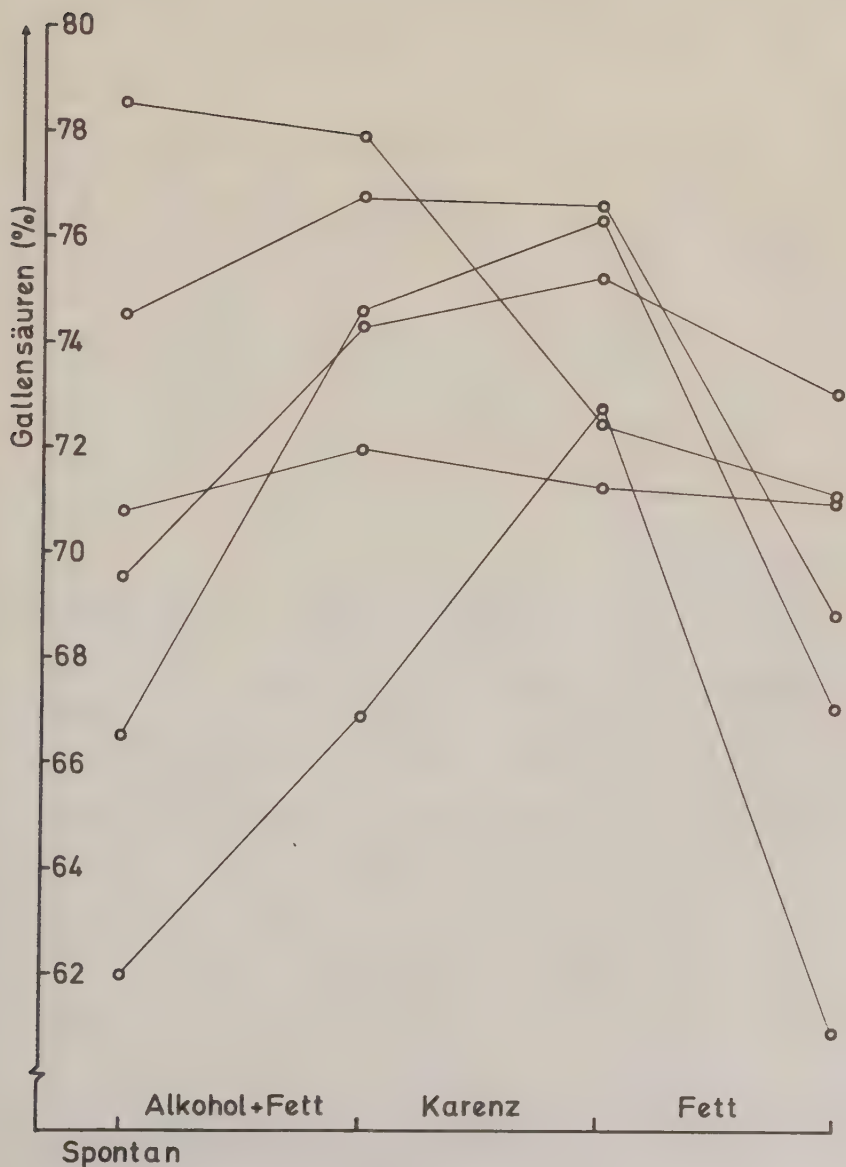


Tabelle IV: Einfluß der Diätperioden auf den Phospholipidgehalt der Galle

P H O S P H O L I P I D E (% der Gesamtlipide)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von I	II	III
1	26,72	21,63	20,22	26,46
2	25,91	28,17	22,28	28,44
3	17,15	18,31	23,03	22,55
4	20,58	19,93	19,02	24,98
5	21,12	20,58	18,41	20,34
6	19,58	20,51	21,95	21,05
Mittel- wert	21,84	21,52	20,81	23,97
SEM	1,52	1,40	0,76	1,30
Differenz	- 0,32	- 0,70	+ 3,15	
T-Wert	0,30	0,48	2,27	
Signi- fikanz	NS	NS	NS	

Abb. V: Lithogener Index

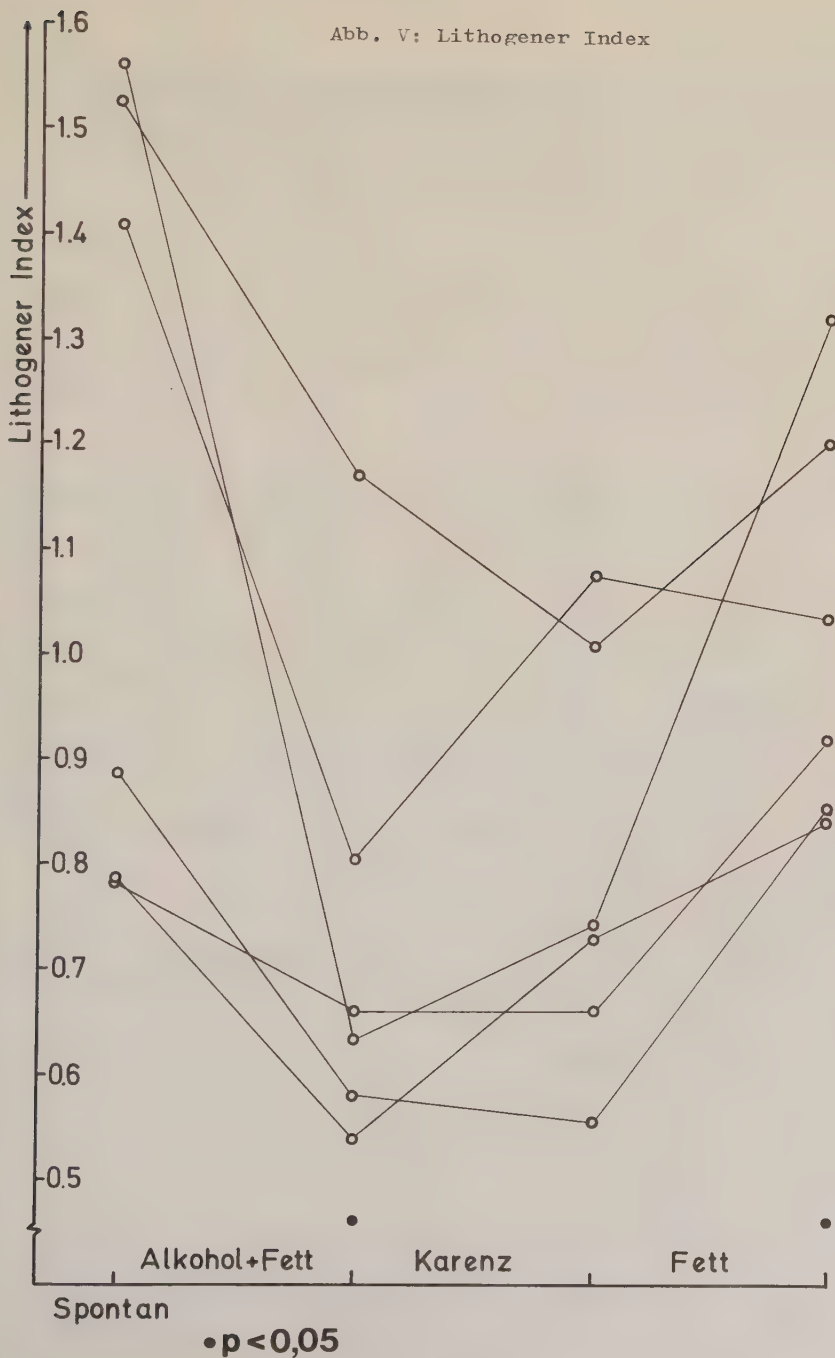


Tabelle V: Einfluß der Diätperioden auf den lithogenen Index (berechnet nach der Gleichung von Thomas et al. (18) für die Löslichkeitsgrenze von Hegardt und Dam (13))

L I T H O G E N E R I N D E X

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von	Periode	
		I	II	III
1	0,89	0,58	0,56	0,85
2	1,56	0,63	0,74	1,32
3	0,78	0,66	0,66	0,92
4	0,78	0,54	0,73	0,84
5	1,41	0,81	1,08	1,04
6	1,53	1,17	1,01	1,20
Mittel- wert	1,16	0,73	0,80	1,03
SEM	0,15	0,10	0,08	0,08
Differenz	- 0,42	+ 0,06	+ 0,232	
T-Wert	3,54	1,00	2,73	
Signi- fikanz	p < 0,020	NS	p < 0,05	

Abb. VI: Cholesterol im Serum (mg/100 ml)

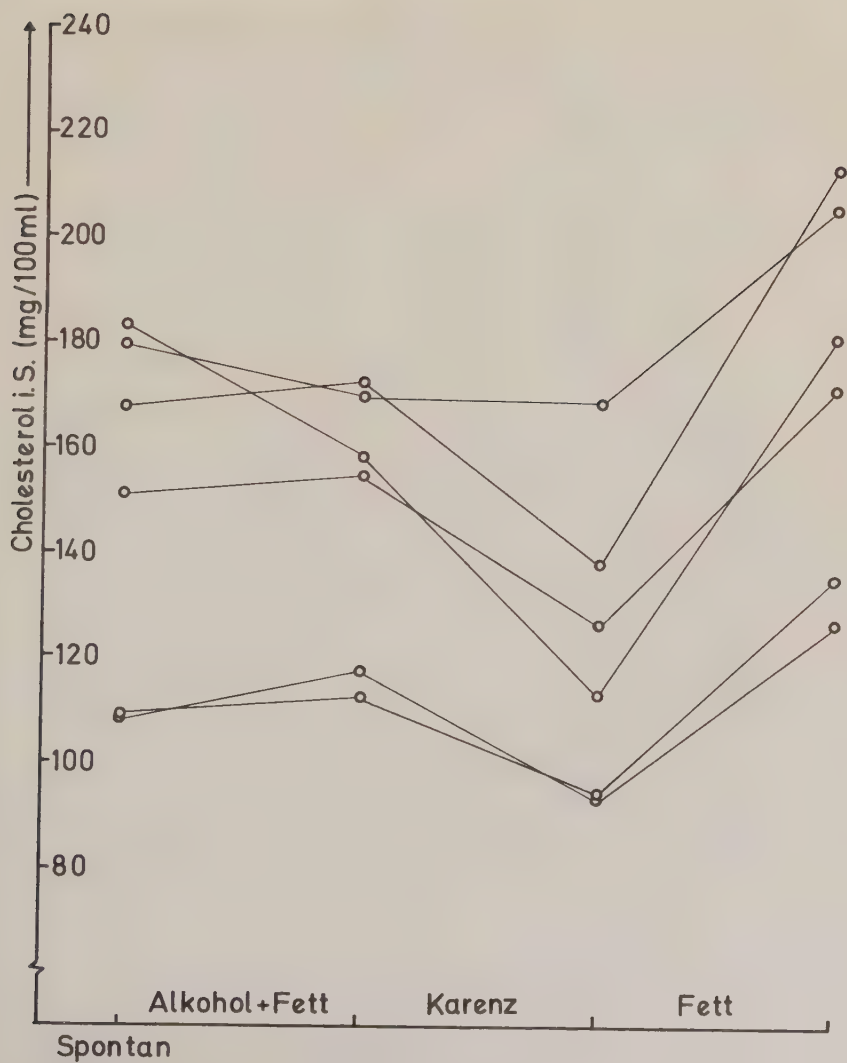


Tabelle VI: Einfluß der Diätperioden auf den Cholesterolspiegel im Serum

C H O L E S T E R O L i. S. (mg/100 ml)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	183,25	158,48	112,92	181,5
2	167,56	172,42	137,77	214,2
3	109,29	112,46	94,71	135,5
4	150,82	154,66	126,60	171,7
5	108,60	117,51	94,45	126,8
6	179,69	170,32	168,85	206,6
Mittel- wert	149,86	147,64	122,55	172,71
SEM	13,74	10,70	11,61	14,65
Differenz	- 2,23	- 25,09	+ 50,17	
T-Wert	0,43	4,07	6,83	
Signi- fikanz	NS	p < 0,01	p < 0,005	

3.5. ÄNDERUNGEN DER ÜBRIGEN PARAMETER WÄHREND DER DIÄTPERIODEN

3.5.1. Änderungen des pH-Wertes und der Ionenkonzentrationen der Galle

Der pH-Wert und die Ionenkonzentrationen der Duodenalgalle sind in Tab. VII-XII aufgelistet. Vor Versuchsbeginn ergaben sich für diese Parameter folgende Werte (± 1 SEM):

pH	8,41 $\pm$ 0,27
anorgan. Phosphor	5,31 $\pm$ 0,72 mg/100 ml
Natrium	125,10 $\pm$ 5,1 mval/l
Kalium	7,23 $\pm$ 0,62 mval/l
Kalzium	2,07 $\pm$ 0,42 mval/l
Chlorid	58,10 $\pm$ 2,5 mval/l

Mit zwei Ausnahmen zeigten diese Größen keine signifikanten Veränderungen während der Diätperioden:

Unter der Karenzperiode (II) zeigten alle Versuchspersonen eine Verringerung des pH-Wertes (Tab. VII) von im Mittel 0,5 Einheiten. Dieses Absinken des pH-Wertes von 7,91 nach Periode I auf 7,42 nach Periode II war signifikant ($p < 0,005$). Ursachen für diese Änderung der Wasserstoffionenkonzentration der Duodenalgalle können nicht angegeben werden.

Ebenfalls während der Karenzperiode wurde eine signifikante Verminderung der Natriumkonzentration (Tab. IX) von im Mittel 126 auf 113,8 mval/l registriert. Auch hierfür sind die Ursachen unbekannt.

Die übrigen Parameter zeigten zum Teil zwar beträchtliche Schwankungen, diese waren jedoch in keinem Fall signifikant.

3.5.2. Änderungen des Phospholipid- und Triglyzeridspiegels im Serum

Die Phospholipid- und Triglyzeridkonzentrationen sind in Tab. XIII und XIV angegeben. Vor Versuchsbeginn ergaben sich folgende Mittelwerte (± 1 SEM):

Phospholipide	$114,0 \pm 29,4$ mg/100 ml
Triglyzeride	$68,49 \pm 17,74$ mg/100 ml

Trotz der erheblichen Schwankungen in der Fettbelastung ergaben sich bei diesen Parametern keine signifikanten Änderungen.

Eine mittlere Abnahme der Phospholipidkonzentration (Tab. XIII) unter der Karenzperiode (II) um $29,4$ mg/100 ml verfehltenur sehr knapp die Signifikanzgrenze.

3.5.3. Änderungen des anorganischen Phosphors und der Enzyme im Serum

Die Mittelwerte für diese Parameter vor Versuchsbeginn (Tab. XV-XIX) betrugen (± 1 SEM):

anorg. Phosphor	$3,15 \pm 0,3$ mg/100 ml
SGOT	$13 \pm 0,9$ mU/ml
SGPT	$11,8 \pm 1,4$ mU/ml
GLDH	$0,7 \pm 0,2$ mU/ml
alk. Phosphatase	$107,8 \pm 12,5$ mU/ml

Keiner dieser Serumparameter zeigte eine signifikante Änderung.

Lediglich der anorg. Phosphor (Tab. XV) stieg unter der Diät von Periode III signifikant ($p < 0,005$) an, ein Grund hierfür kann nicht angegeben werden.

Tabelle VII: Einfluß der Diätperioden auf den pH-Wert
der Galle

Versuchs- person	Vor Diät	p H - W E R T		
		I	II	III
1	9,0	8,3	7,6	
2	8,8	8,4	7,7	7,2
3	9,0	7,5	7,3	7,15
4	8,55	7,95	7,45	7,35
5	7,7	7,45	7,1	7,05
6	7,45	7,9	7,4	7,4
Mittel- wert	8,41	7,91	7,42	7,23
SEM	0,27	0,16	0,08	
Differenz	- 0,5	- 0,49	-0,19	
T-Wert	1,92	6,14		
Signifi- kanz	NS	p < 0,005		

Tabelle VIII: Einfluß der Diätperioden auf den anorg.
Phosphor in der Galle

A N O R G . P H O S P H O R (mg/100 ml)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	3,14	1,93	2,56	4,47
2	3,22	5,31	4,67	8,75
3	7,49	7,89	4,32	4,18
4	5,53	5,44	9,05	10,26
5	5,9	11,84	2,42	8,48
6	6,63	6,87	2,79	14,1
Mittel-				
wert	5,31	6,54	4,30	8,37
SEM	0,72	1,34	1,02	1,52
Differenz	+ 1,22	- 2,24	+ 4,07	
T-Wert	1,18	1,21	2,39	
Signi-				
fikanz	NS	NS	NS	

Tabelle IX: Einfluß der Diätperioden auf die Natrium-
konzentration in der Galle

N A T R I U M (mval/l)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	134	134	128	123
2	131	118	96	99
3	100	120	104	106
4	130	132	131	94
5	126	126	100	132
6	130	126	124	120
Mittel- wert	125,1	126	113,8	112,3
SEM	5,1	2,5	6,3	6,0
Differenz		+ 0,83	- 12,16	- 1,5
T-Wert		0,18	2,79	0,16
Signi- fikanz		NS	p<0,05	NS

Tabelle X: Einfluß der Diätperioden auf die Kaliumkonzentration der Galle

K A L I U M (mval/l)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	5,6	7,25	7,95	5,8
2	5,3	7,0	9,0	8,5
3	7,0	8,5	9,0	5,4
4	8,5	8,5	9,0	6,95
5	8,0	7,75	7,65	7,3
6	9,0	9,5	7,3	7,55
Mittel- wert	7,23	8,08	8,31	6,91
SEM	0,62	0,38	0,31	0,46
Differenz		+ 0,85	+ 0,23	- 1,40
T-Wert		2,37	0,41	2,37
Signi- fikanz		NS	NS	NS

Tabelle XI: Einfluß der Diätperioden auf die Kalziumkonzentration der Galle

K A L Z I U M (mval/l)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	1,85	2,1	3,7	1,5
2	0,7	0,9	1,0	0,75
3	3,1	3,2	5,05	1,15
4	2,1	3,1	4,65	2,15
5	1,3	3,9	2,65	3,7
6	3,4	3,0	3,0	2,7
Mittel- wert	2,07	2,70	3,34	1,99
SEM	0,42	0,43	0,60	0,44
Differenz		+ 0,63	+ 0,64	- 1,35
T-Wert		1,41	1,26	1,81
Signi- fikanz		NS	NS	NS

Tabelle XII: Einfluß der Diäperioden auf die Chloridkonzentration der Galle

C H L O R I D (mval/l)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	47	52	65	60
2	57	89	73	74
3	62	27	86	67
4	61	60	58	69
5	65	85	60	66
6	57	56	47	63
Mittel- wert	58,1	61,5	64,8	66,5
SEM	2,5	9,3	5,4	1,9
Differenz		+ 3,33	+ 3,33	+ 1,66
T-Wert		0,35	0,27	0,32
Signi- fikanz		NS	NS	NS

Tabelle XIII: Einfluß der Diätperioden auf den Phospholipidspiegel im Serum

P H O S P H O L I P I D E i. S. (mg/100 ml)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	160,6	135,4	60,5	104,4
2	58,6	80,0	69,8	141,2
3	57,0	65,1	49,1	54,0
4	62,1	177,1	184,8	79,7
5	110,5	144,0	111,0	49,9
6	235,5	260,0	209,7	69,3
Mittel- wert	114,0	143,6	114,1	83,0
SEM	29,4	28,8	27,8	14,1
Differenz	+ 29,5	- 29,4	- 31,1	
T-Wert	1,55	2,41	0,89	
Signi- fikanz	NS	NS	NS	

Tabelle XIV: Einfluß der Diätperioden auf den Trigly-
zeridspiegel im Serum

T R I G L Y Z E R I D E i. S. (mg/100 ml)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	73,74	105,97	49,40	93,07
2	27,92	80,18	52,98	62,29
3	45,82	34,36	63,72	72,31
4	55,13	40,81	63,00	42,96
5	56,56	118,14	65,87	75,17
6	151,78	126,72	134,60	213,36
Mittel- wert	68,49	84,36	71,59	93,19
SEM	17,74	16,14	12,88	24,95
Differenz	+ 15,87	-12,76	+ 21,59	
T-Wert	1,03	0,82	1,53	
Signi- fikanz	NS	NS	NS	

Tabelle XV: Einfluß der Diätperioden auf den anorg.
Phosphor im Serum

A N O R G . P H O S P H O R i. S. (mg/100 ml)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	3,25	3,21	2,71	4,43
2	3,09	3,09	2,15	3,53
3	3,23	3,40	3,50	4,04
4	4,10	3,31	3,32	3,65
5	3,48	3,71	2,39	3,82
6	1,79	2,35	2,34	3,79
Mittel- wert	3,15	3,17	2,73	3,87
SEM	0,31	0,19	0,23	0,13
Differenz	+ 0,02	- 0,44	+ 1,14	
T-Wert	0,11	1,85	4,95	
Signi- fikanz	NS	NS	p < 0,005	

Tabelle XVI: Einfluß der Diätperioden auf die SGOT

Versuchs- person	Vor Diät	S G O T (mU/ml)		
		Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	16	15		9
2	10	14		18
3	13	12	9	7
4	14	10	10	11
5	11	13	10	14
6	14	13	10	10
Mittel- wert	13	12,8	9,8	11,5
SEM	0,9	0,7		
Differenz		- 0,16	- 3,05	+ 1,75
T-Wert		0,14		
Signi- fikanz		NS		

Tabelle XVII: Einfluß der Diätperioden auf die SGPT

Versuchs- person	S G P T (mU/ml)			
	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	16	16		14
2	9	9		14
3	10	11	8	9
4	10	9	10	10
5	9	12	7	9
6	17	16	13	6
Mittel- wert	11,8	12,1	9,5	10,3
SEM	1,4	1,3		
Differenz		+ 0,33	- 2,6	+ 0,8
T-Wert		0,54		
Signi- fikanz		NS		

Tabelle XVIII: Einfluß der Diätperioden auf die GLDH
im Serum

G L D H (mU/ml)				
Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	40,5	40,5		1,2
2	40,5	0,5		
3	40,5	40,5	40,5	40,5
4	40,5	40,5	40,5	
5	40,5	2,5	40,5	2,0
6	1,9	1,0	1,2	2,1
Mittel- wert	0,7	0,9	0,6	1,4
SEM	0,2	0,3		
Differenz		+ 0,18	- 0,24	+ 0,77
T-Wert		0,46		
Signi- fikanz		NS		

Tabelle XIX: Einfluß der Diätperioden auf die alkalische Phosphatase im Serum

ALKAL . PHOSPHATASE (mU/ml)

Versuchs- person	Vor Diät	Nach der Diät von Periode		
		I	II	III
1	121	157		109
2	164	199		
3	100	85	97	108
4	85	88	94	
5	83	73	81	84
6	94	68	67	79
Mittel- wert	107,8	111,6	84,75	95
SEM	12,5	21,8		
Differenz		+ 3,8	- 26,9	+ 10,3
T-Wert		0,35		
Signi- fikanz		NS		

4. DISKUSSION

In der Pathogenese der Cholesterolgallensteine spielen zahlreiche Faktoren eine wichtige Rolle. Neben bestimmten Erkrankungen, wie Enteritis regionalis Crohn oder Diabetes mellitus, und hormonalen Komponenten, wie z.B. Schwangerschaft, werden epidemiologische, genetische und Ernährungsfaktoren diskutiert.

Epidemiologische Studien haben eine sehr große Differenz in der Häufigkeit der Cholesterolgallensteine ergeben. Während bei dem ostafrikanischen Volksstamm der Massai überhaupt keine Gallensteine beobachtet werden konnten (49), und in den unterentwickelten Staaten Afrikas, Asiens und Lateinamerikas die Cholesterolcholelithiasis selten ist (Lit. bei 1), zeigen die hochzivilisierten Länder der westlichen Welt eine hohe Morbidität. Ein Extrem stellen die nordamerikanischen Indianerstämme mit einer Morbidität von 70 % dar (5). Die Ursachen für die stark schwankende Häufigkeit des Cholesterolgallensteinleidens liegen in genetischen Faktoren und Ernährungsunterschieden.

Bei den Massai-Negern scheint die Ursache für das extrem seltene Vorkommen von Gallensteinen eher in einer genetischen Fixierung als in besonderen Ernährungsgewohnheiten zu liegen. Biss et al. (49) konnten bei den Massai unter Cholesterolbelastung keinen Anstieg des Serumcholesterols gegenüber einer mit cholesterolfreier Diät ernährten Kontrollgruppe nachweisen. Sie fanden bei der Belastungsgruppe eine um 50 % reprimierte Cholesterolsynthese gegenüber der Kontrollgruppe, so daß sie die Schlußfolgerung zogen, bei den Massai bestehe ein genetisch fixierter, starker feed back des Nahrungscholesterols auf die körpereigene Cholesterolsynthese, der für das niedrige Serumcholesterol und für das Fehlen von Cholesterolgallensteinen und atherosklerotischen Veränderungen verantwortlich ist.

Auch bei den Indianerstämmen Nordamerikas scheinen Ernährungsfaktoren nicht die Ursache für die extrem hohe Morbidität an Cholesterolgallensteinen zu sein. Bei dieser Gruppe liegt die Ursache wohl in einem kombinierten Enzymdefekt im Steroidmetabolismus der Leber, der zu einer Erhöhung der Cholesterolsynthese und zu einer Erniedrigung der Gallensäuresynthese führt (50). Auf der anderen Seite wurden zahlreiche Beispiele von Nahrungseinflüssen auf die Häufigkeit von Gallensteinen beschrieben.

So konnte bei nach Australien ausgewanderten Italienerinnen eine 4 fach höhere Morbidität an Gallensteinen nachgewiesen werden, als statistisch in ihrem Heimatland zu erwarten gewesen wäre (35). Dieser Anstieg der Gallensteinhäufigkeit wurde durch eine Änderung der Ernährungsgewohnheiten erklärt: Erhöhter Fettkonsum bei verringertem Kohlenhydratverbrauch.

Ein eindrucksvolles Beispiel der Einflußnahme der Ernährung auf die Gallensteinhäufigkeit wurde von Malhotra (51) durch die Untersuchung von 2,6 Millionen indischen Eisenbahnarbeitern und ihren Familien geliefert. Malhotra stellte fest, daß im Norden Indiens die Gallensteinhäufigkeit unter den 18-55 jährigen Eisenbahnarbeitern 7 mal höher war als im Süden des Landes. Er erklärte diesen Unterschied mit einem 8 - 19 mal höheren Fettkonsum im Norden gegenüber dem Süden des Landes, sowie einem Unterschied im Fettsäuremuster und der Nahrungskonsistenz: Während die Nordinder mehr eine feste, kauintensive Kost mit kurzkettigen und gesättigten Fettsäuren zu sich nehmen, ist die Nahrung im Süden weniger kauintensiv und reich an langkettigen Fettsäuren (51).

In Japan wurde eine auffallende Differenz im Verhältnis von Bilirubin- und Cholesterolsteinen zwischen Tokyo und den mehr ländlichen Gebieten im Norden des Landes festgestellt (52). Während in Tokyo, wie in den meisten westlichen Ländern, ein Vorherrschen des Cholesterolgallensteins gefunden wurde, ist in den ländlichen Distrikten der für Asien typische Bilirubinstein wesentlich häufiger. Diese Differenz kann zum Teil durch den unterschiedlichen Fettkonsum erklärt werden. In Tokyo ist der Fettverbrauch höher als in den ländlichen Gebieten, was auch zu einem höheren Serumcholesterolspiegel in Tokyo gegenüber den ländlichen Bezirken führt. Zum anderen wird der in den ländlichen Bezirken häufigere Befall mit *Ascaris lumbricoides* für das Vorherrschen des Bilirubinsteines als Ursache herangezogen (52).

Sarles et al. (39) konnten in wiederholten Untersuchungen zeigen, daß die Gesamtkalorienaufnahme der einzige signifikante Unterschied zwischen Steinträgerinnen und altersgleichen Kontrollpersonen war.

Mit steigendem Wohlstand hat auch die Gallensteinhäufigkeit seit dem II. Weltkrieg erheblich zugenommen (53), was wohl hauptsächlich auf eine Erhöhung der Kalorien- und Fettzufuhr zurückzuführen ist.

Die Ernährungsgewohnheiten scheinen einen wesentlichen Einfluß auf die Bildung von Gallensteinen zu haben.

Es wurden zahlreiche Versuche über den Einfluß von polyensäurereicher Diät auf den Cholesterolstoffwechsel und die Lipidzusammensetzung der Galle beim Menschen durchgeführt. Unter einer Diät reich an ungesättigten Fettsäuren kommt es zu einer signifikanten Senkung des Serumcholesterolspiegels und einer Erhöhung der Ausscheidung saurer und neutraler Steroide (54, 55).

Zudem wurden unter einer solchen Kost häufiger Gallensteine gefunden als bei einer Kontrollgruppe (36), und bei 4 von 8 Patienten mit Hypertriglyzeridämie erhöhte diese Diät die Lithogenität der Blasengalle (37). Auch verschiedene Wirkungen des Alkohols wurden untersucht: Hohe orale Alkoholgaben erhöhten den Serumtriglyzeridspiegel (56) und intragastrische Gaben hoher Dosen Alkohols verringerten den Gallefluß und die Gallensäuresekretion. In diesen Versuchen wurde aber nicht die Lipidzusammensetzung der Galle bestimmt.

Die Wirkung des sogenannten Wohlstandsalkoholismus auf die Lithogenität der Galle wurde bis jetzt noch nicht untersucht. Unter "Wohlstandsalkoholismus" verstehen wir einen regelmäßigen, reichlichen Genuß alkoholischer Getränke bei gleichzeitiger hyperkalorischer Ernährung, die meist fettreich ist. Während beim Alkoholiker die Kalorien des Alkohols den täglichen Kalorienbedarf zum Teil decken und somit zu einem Mangel an sogenannten lipotropen Substanzen führen, ist dieses Mangelsyndrom beim Wohlstandsalkoholiker nicht zu finden.

In unserer Studie versuchten wir, die Ernährungsgewohnheiten des Wohlstandsalkoholikers nachzuahmen: Es wurde eine Fett-, Alkohol- und Cholesterobelastung durchgeführt, die durchaus im Rahmen mitteleuropäischer Ernährungsgewohnheiten blieb, und die Ergebnisse dieser Periode mit denen nach einer fettarmen und alkoholfreien Diätperiode verglichen. Außerdem wurde eine alkoholfreie, aber fettreiche Diätperiode durchgeführt.

Die starke individuelle Streuung der Lipidkonzentrationen vor Versuchsbeginn können zum Teil durch unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten der einzelnen Versuchspersonen erklärt werden.

Vor Versuchsbeginn waren keine Auflagen bezüglich der Nahrungszusammensetzung gemacht worden, alle Versuchspersonen waren normalgewichtig und genossen Alkohol, wenn überhaupt, sehr mäßig. Die Versuchspersonen nahmen mittags die allgemeine Krankenhauskost ein, so daß keine sehr großen Ernährungsunterschiede bei den Versuchspersonen zu erwarten waren. Vielmehr scheinen andere, nicht nahrungsbedingte Faktoren eine wesentliche Rolle zu spielen, da manche Versuchspersonen eine Tendenz zu hohen Werten der Cholesterolsättigung zeigten, andere dagegen mehr eine Tendenz zu niedrigen Werten und diese während allen Versuchsperioden beibehielten. Gleiches gilt auch für den Serumcholesterolspiegel, jedoch konnte keine feste Korrelation zwischen dem Serumcholesterol und der Cholesterolsättigung in der Galle festgestellt werden. Die Mittelwerte für die drei Gallenlipide vor Versuchsbeginn liegen im Bereich der in der Literatur (24, 41, 58) für Normalpersonen angegebenen Werte für Duodenalgalle. Legt man die Äquilibriumslinie für Cholesterol von Hegardt und Dam (13) zugrunde, so findet sich bei der Hälfte aller Versuchspersonen ein lithogener Index von über 1,0.

Unter der Fett-Cholesterol-Alkoholbelastung (I) verringerte sich der lithogene Index um 36,7 % gegenüber den Spontanwerten vor Versuchsbeginn. Im Einzelnen zeigte sich ein signifikanter Abfall des relativen Cholesterolanteils um fast 40 %, ein Anstieg des Gallensäurenanteils bei unverändertem Phospholipidanteil. Nur eine Versuchsperson hatte noch einen lithogenen Index von über 1,0. Völlig unerwartet führte die gleichzeitige Gabe von Alkohol bei einer Cholesterolzufuhr von über 500 mg zu einem Abfallen der Cholesterolkonzentration der Galle.

Während der Fett- und Alkoholkarenz (II) lag die Cholesterolzufuhr mit Sicherheit um 500 mg und die Fettzufuhr um 86,5 g niedriger als in der vorangegangenen Periode. Dennoch zeigte die relative Cholesterolkonzentration der Galle keine Veränderung: Der Mittelwert war mit 4,7 % nach der Belastungsperiode (I) und 5,0 % nach der Karenzperiode (II) nahezu konstant. Auch die anderen Lipide zeigten keine Veränderungen, so daß der lithogene Index konstant blieb.

Der Serumcholesterolspiegel sank während der Karenzperiode um durchschnittlich 17 % ab ($p < 0,01$).

In der letzten Periode war der Fettkonsum um 81 g und der Cholesterolverbrauch um 280 mg höher als in der vorangegangenen Periode. Der erhöhten Cholesterobelastung entsprechend zeigten der Cholesterolanteil an den Gallenlipiden einen signifikanten Anstieg, die Gallensäuren einen signifikanten Abfall; auch der Phospholipidanteil stieg an, allerdings verfehlt dieser Anstieg die Signifikanzgrenze knapp. Der lithogene Index lag nach der Fettbelastung und Alkoholkarenz um durchschnittlich 29,2 % über den Werten nach der Karenzperiode. Am Ende der Versuchsperioden lagen wieder dieselben 3 Versuchspersonen im lithogenen Bereich wie initial.

Trotz der stark wechselnden Fettbelastung konnten keine einheitlichen Veränderungen des Triglyzeridspiegels im Serum festgestellt werden. Die Werte zeigten eine starke individuelle Streuung.

Der Serumcholesterolspiegel zeigte eine enge Kopplung mit der Fett- und Cholesterolmenge in der Nahrung: Die niedrige Fett- und Cholesterolzufuhr in der Karenzperiode (II) bewirkte einen signifikanten Abfall des Serumcholesterols gegenüber der Fett-Cholesterol-Alkoholperiode (I) um durchschnittlich 17 %.

Ebenso bewirkte die hohe Fett- und Cholesterolbelastung während Periode III einen hoch signifikanten Anstieg des Serumcholesterolspiegels gegenüber der Karenzperiode (II) um im Mittel 40,1 %. Lediglich während der Fett-Cholesterol-Alkoholperiode (I) zeigten sich keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Spontanwerten vor Versuchsbeginn. Dies kann einerseits mit der undefinierten Nahrungszusammensetzung vor Versuchsbeginn andererseits durch die Wirkung des gleichzeitig genossenen Alkohols während der Periode I erklärt werden.

Die Erhöhung der Lithogenität unter der Fettbelastung und Alkoholkarenz (III) gegenüber der Karenzperiode (II) stimmt mit den Befunden von DenBesten et al. (38) überein. Diese Autoren belasteten 10 männliche Versuchspersonen mit 750 mg Cholesterol täglich über 3 Wochen und untersuchten die Lipidveränderungen der Duodenalgalle, die morgens nach einer 12 stündigen Fastenperiode gewonnen wurde, im Vergleich zu einer cholesterolfreien Diätperiode. Sie verwendeten Formuladiäten, wodurch die Cholesterolmenge relativ genau eingehalten wurde. Die Autoren fanden unter der Cholesterolbelastung einen Anstieg der relativen Cholesterolkonzentration und des Phospholipidanteils sowie ein Absinken des Gallensäurenanteils gegenüber der cholesterolfreien Periode. Der lithogene Index stieg unter der Cholesterolbelastung um 17,8 % auf 1,31 gegenüber 1,11 unter der cholesterolfreien Diät.

Zwar konnte in unseren Versuchen die Cholesterolbelastung nicht so exakt definiert werden wie bei DenBesten, dennoch läßt sich mit Bestimmtheit sagen, daß sie während der Karenzperiode (II) um 280 mg niedriger lag als während der Fettbelastungsperiode (III).

Den vergleichbaren Versuchsbedingungen entsprechend fanden wir ähnliche Tendenzen der Gallenlipide: Anstieg des Cholesterolanteils und Abfall des Gallensäurenanteils; auch der Phospholipidanteil stieg während der Fettbelastungsperiode (III) gegenüber der Karenz (II) an, ähnlich wie bei DenBesten, jedoch verfehlte dieser Anstieg die Signifikanzgrenze nur knapp. Der Anstieg des lithogenen Index von der Karenzperiode (II) zur Fettbelastungsperiode (III) liegt mit 0,23 in der gleichen Größenordnung wie der Anstieg bei den Versuchen von DenBesten, obwohl in unseren Versuchen die Cholesterolbelastung nur um weniger als die Hälfte erhöht wurde. Bei DenBesten waren die Veränderungen der einzelnen Lipidfraktionen zum Teil jedoch wesentlich größer, und die Erhöhung des lithogenen Index spielte sich auf einem höheren Lithogenitätsniveau ab als in unseren Versuchen.

Osuga et al. (59) fütterten Totenkopffäffchen über verschiedene Zeiten mit einer Diät, die 45 % der Kalorien als Butter und zusätzlich 100 mg Cholesterol auf 100 kcal enthielt, und verglichen die Gallensteinhäufigkeit und die Lipidzusammensetzung der Blasengalle dieser Tiere mit den entsprechenden Parametern einer Kontrollgruppe. Während die Tiere unter normaler Kost keine Gallensteine bildeten, fanden die Autoren bei den mit butterreicher Diät ernährten Tieren eine Gallensteinhäufigkeit von 33 % und eine signifikant höhere relative Cholesterolkonzentration bei nicht signifikant veränderten Phospholipid- und Gallensäurekonzentrationen. Die Absolutkonzentrationen zeigten eine Verdoppelung des Chosterols bei gleichbleibenden Werten für Gallensäuren und Phospholipide. Die Erhöhung der Cholesterol sättigung war also auf eine echte Steigerung der Cholesterolkonzentration und nicht relativ auf eine Erniedrigung der Konzentrationen der anderen Lipide zurückzuführen.

Inwieweit sich diese Ergebnisse auf den Menschen übertragen lassen, ist fraglich, doch scheint auch in unseren Versuchen während der Fettbelastungsperiode (III) der lithogene Index durch erhöhte Cholesterolsekretion angestiegen zu sein.

Unsere Ergebnisse unter der reinen Fettbelastung (III) stimmen also mit den Befunden von DenBesten völlig überein. Unter hoher oraler Fettaufnahme steigt die Lithogenität der Galle durch vermehrte biliäre Cholesterolausscheidung an. Wurde jedoch die gleiche Menge Fett oral zusammen mit Alkohol verabreicht, so blieb der signifikante Anstieg des lithogenen Index aus. Alkohol in einer Menge von nur 50 g pro Tag hat offenbar die Entstehung einer lithogenen Galle verhindert. Chronische Alkoholzufuhr beim Menschen führt in Mengen über 100 g pro Tag zu schweren morphologischen und metabolischen Veränderungen der Leber. Bei den morphologischen Veränderungen steht eine Schwellung und Formveränderung der Mitochondrien und eine Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulums im Vordergrund, während metabolisch hauptsächlich der Lipidstoffwechsel vom Alkohol beeinflusst wird (Lit. bei 60). Lefevre und Lieber (61) fanden unter Alkoholeinfluß eine Erhöhung der Cholesterolsynthese.

Im Gegensatz dazu fanden Weis und Baas (62) bei Ratten, die über 20 Tage Alkohol erhalten hatten, eine signifikante Verminderung der Cholesterolsynthese in der Leber und im Ileum. Auch in Kurzzeitversuchen über 2 und 4 Tage konnte gezeigt werden, daß Alkohol die Cholesterolsynthese der Leber hemmt. Sogar bei Inkubationsstudien von Leberschnitten in Anwesenheit von Alkohol und C¹⁴-Azetat wurde eine Verminderung der Cholesterolsynthese nachgewiesen im Vergleich zur Inkubation mit Glukose und C¹⁴-Azetat (62). Alkohol verursachte also eine kurzfristige und eine chronische Repression der intrahepatischen Cholesterolsynthese bei Ratten.

Überträgt man diese Ergebnisse auf den Menschen, so könnten sie die starke Reduzierung des Cholesterolanteils an den Gallenlipiden gegenüber den Spontanwerten in unserer Diätstudie erklären. Allerdings war die Alkoholbelastung bezogen auf das Körpergewicht in unserer Studie 10fach niedriger. Eventuell ist dieser Wirkung des Alkohols auch das Konstantbleiben des Serumcholesterolspiegels unter der Fett-Cholesterol-Alkoholbelastung (I) zuzuschreiben, was auch im Gegensatz zu den übrigen Diätperioden steht, in denen sich eine Abhängigkeit des Serumcholesterols vom Nahrungscholesterol gezeigt hat.

Die Alkoholaufnahme fand in unserer Studie abends statt. Nach Genuß von 50 g reinem Alkohol dürfte der Blutalkoholspiegel bei einer 70 kg schweren Person in der Größenordnung von 1,2 Promille liegen. Legt man eine Abbaurate von 0,15 Promille pro Stunde zugrunde, so dauert die Metabolisierung des Alkohols 8 Stunden. Da für unsere Messung die Nüchternblasengalle morgens gegen 8 Uhr entnommen wurde, kann man annehmen, daß diese Galle während eines hohen Blutalkoholspiegels sezerniert worden war. Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Tierversuche könnte neben einer langfristigen Repression der Cholesterolsynthese durch den Alkohol zusätzlich auch kurzfristig der erhöhte Blutalkoholspiegel auf die Cholesterolsynthese und Sekretion in die Galle eingewirkt haben und so am Entstehen der erniedrigten Cholesterolsättigung beteiligt gewesen sein. Dies ist zumindest theoretisch möglich, da das geschwindigkeitsbeschränkende Enzym der Cholesterolsynthese, die β -Hydroxymethylglutaryl-CoA-Reduktase, eine Halbwertszeit von etwa 150 min hat (63). Eine Sekretionsstörung des intrahepatisch gebildeten Cholesterols in die Galle kommt weniger in Betracht, da unter Alkoholeinnahme lediglich der Triglyzeridgehalt der Leber ansteigt (62).

Unter kurzfristigen, hohen intragastrischen Alkoholgaben wurde zwar eine Verminderung der Gallensäuresekretion festgestellt, da aber auch das sezernierte Volumen vermindert war (57), kann aus diesen Versuchen keine Aussage über die Lithogenität der Galle gemacht werden.

Ob die intrahepatische Wirkung des Alkohols alleine die Cholesterolsättigung der Galle unter der Fett-Cholesterol-Alkoholbelastung (I) so stark senken konnte, daß sich keine signifikanten Änderungen zwischen den Ergebnissen nach der Belastungsperiode (I) und nach der Karenzperiode (II) ergaben, und ob nicht noch andere Wirkungen des Alkohols - z. B. auf den Gastrointestinaltrakt - eine Rolle gespielt haben, kann aus den vorliegenden Daten nicht gesichert werden.

Eine weitere Möglichkeit der Erklärung wäre eine Kostumstellung, die zu einem veränderten Fasergehalt der Nahrung führen könnte und so den enterohepatischen Kreislauf der Gallensäuren beeinflussen würde. Eine solche Kostumstellung während unserer Diätperioden wurde jedoch von keiner Versuchsperson vorgenommen.

Grundy et al. (58) zeigten, daß die Gesamtcholesterolsynthese und Sekretion in die Galle positiv mit dem Körpergewicht korreliert, und daß eine positive Korrelation zwischen Cholesterolsynthese und Sekretionsraten in die Galle besteht. Die Schwankungen des Körpergewichtes unserer Versuchspersonen während der einzelnen Diätperioden waren sehr gering und lagen immer unter 5 %. Es ist somit sehr unwahrscheinlich, daß eine Änderung des Körpergewichtes über eine Änderung der Cholesterolsynthese und Sekretion zu den starken Schwankungen der Cholesterolsättigung während der Diätperioden beigetragen hat.

Unsere Beobachtungen, daß fettarme Diät zu einer Senkung der Cholesterolsättigung der Galle führt und andererseits fettreiche Kost den lithogenen Index erhöht, stimmen mit den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren mit ähnlichem Versuchsansatz überein.

Erstmalig wurde jedoch der Einfluß von Alkohol auf den lithogenen Index untersucht.

In der Wohlstandsgesellschaft Europas wird Alkohol häufig als Digestivum nach fettreichen Mahlzeiten genossen. Es ist zwar bekannt, daß Äthanol die Magensäuresekretion stimuliert, doch fehlt bisher der Beweis, ob die subjektive Beobachtung, daß Alkohol als Digestivum wirksam ist, auf einer die Lipolyse und Fettresorption steigernden Wirkung des Alkohols beruht oder nur auf einer anaesthetischen, das Völlegefühl beseitigenden Wirkung.

Auf Grund der Verbesserung der Fettlöslichkeit bei Anwesenheit von Alkohol einerseits und der klinischen Beobachtung andererseits, daß Zirrhotiker vermehrt Gallensteine bilden (29), erwarteten wir eine noch größere Steigerung der Lithogenität unter zusätzlicher Aufnahme von Alkohol bei fettreicher Kost. Umso überraschender war das Ergebnis, daß bei allen Versuchspersonen unter Alkoholaufnahme die Ausscheidung von Cholesterol in der Galle gegenüber der reinen Fettbelastung sank und der lithogene Index im Normbereich lag. Obgleich damit eine günstige Wirkung des Alkohols auf die Lipidzusammensetzung der Galle nachgewiesen wurde, verbietet sich eine therapeutische Anwendung in Anbetracht der zahlreichen unerwünschten Nebenwirkungen des Alkohols wie Steatosis hepatis, Pankreatitis, Neuropathie etc.

Unsere Versuche erlauben jedoch die Schlußfolgerung, daß Alkohol die Lithogenität der Galle nicht erhöht.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

Epidemiologische Untersuchungen lassen vermuten, daß bei der Entstehung von Gallensteinen Ernährungsfaktoren eine große Rolle spielen. Wir belasteten daher 6 Normalpersonen mit einer fett- und cholesterolreichen Diät unter gleichzeitiger Alkoholeinnahme und verglichen die Lipidzusammensetzung der Galle nach dieser Periode mit den Ergebnissen nach einer fettarmen und alkoholfreien Periode und nach einer fettreichen und alkoholfreien Periode.

Unter der fettreichen und alkoholfreien Periode stieg die Cholesterolsättigung der Galle gegenüber der fettarmen und alkoholfreien Periode signifikant um 29 % an. Die Cholesterolsättigung der Galle unter Alkoholzufuhr bei fett- und cholesterolreicher Diät unterschied sich trotz der großen Differenz in der Cholesterolzufuhr nicht von den Ergebnissen nach der fettarmen und alkoholfreien Periode.

Während die alleinige Aufnahme einer fett- und cholesterolreichen Kost zu einer lithogenen Galle führte, verminderte die gleichzeitige Einnahme von Alkohol die Lipidausscheidung in die Galle signifikant.

Dieses auffallende Ergebnis muß einer Wirkung des während der Fett- und Cholesterolbelastung gleichzeitig genossenen Alkohols zugeschrieben werden, wofür mit großer Wahrscheinlichkeit eine Hemmung der Cholesterolsynthese in der Leber verantwortlich ist.

Der Serumcholesterolspiegel zeigte ein gleichsinniges Verhalten mit der Höhe der Cholesterol- und Fettbelastung.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Back, P. Zur Epidemiologie des Gallensteinleidens.
Leber Magen Darm 4,1: 13-16 (1974)
2. Ingelfinger, F.J. Digestive disease as a national problem. V. Gallstones.
Gastroenterology 55: 102-104 (1968)
3. Weis, H.J. Die Rolle der Gallensäuren bei der Bildung und Auflösung von Gallensteinen.
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 80: 338-343 (1974)
4. Schoenfield, Animal models of gallstone formation.
L.J. Gastroenterology 63: 189-191 (1972)
5. Sampliner, R.E., Gallbladder disease in Pima Indians.
Bennett, P.H. Demonstration of high prevalence
et al. and early onset by cholecystography.
N. Engl. J. Med. 283: 1358-1364
(1970)
6. Goldstein, L.I., Gallstones: Pathogenesis and medical
Schoenfield, treatment.
L.J. Advances Int. Med. 20: 89-119
(1975)

7. Bourguès, M.,
Small, D.M.,
et al. Biophysics of lipidic associations.
 III. The quaternary systems lecithin-
 bile salt - cholesterol - water.
 Biochim. Biophys. Acta 144: 189-
 201 (1967)
8. Bourguès, M.,
Small, D.M.,
et al. Biophysics of lipidic associations.
 II. The ternary systems cholesterol -
 lecithin - water.
 Biochim. Biophys. Acta 137: 157-
 167 (1967)
9. Small, D.M.,
Penkett, S.A.,
et al. Studies on simple and mixed bile
 salt micelles by nuclear magnetic
 resonance spectroscopy.
 Biochim. Biophys. Acta 176: 178-
 189 (1969)
10. Admirand, W.H.,
Small, D.M. The physicochemical basis of cho-
 lesterol gallstone formation in man.
 J. Clin. Invest. 47: 1043-1052
 (1968)
11. Neiderhiser,
D.H.,
Roth, H.P. Cholesterol solubilization by solu-
 tions of bile salts and bile salts
 plus lecithin.
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128:
 221-225 (1968)
12. Swell, L.,
Bell, C.C.,
et al. The cholesterol saturation index
 of human bile.
 Am. J. Dig. Dis. 19: 261-265 (1974)
13. Hegardt, F.G.,
Dam, H. The solubility of cholesterol in
 aqueous solutions of bile salts
 and lecithin.
 Z. Ernährungswiss. 10: 223-233 (1970)

14. Holzbach, R.T., Cholesterol solubility in bile:
Marsh, M. Evidence that supersaturated bile
et al. is frequent in healthy man.
J. Clin. Invest. 52: 1467-1479
(1973)

15. Mufson, D., Cholesterol solubility in model
Triyanond, K. bile systems: Implications in
et al. cholelithiasis.
J. Pharm. Sci. 63: 327-332 (1974)

16. Carey, M.C., Solubility of cholesterol in aque-
Small, D.M. ous bile salt - lecithin solutions.
Importance of metastability, lipid
concentration and temperature.
Gastroenterology 64: A-23/706 (1973)

17. Metzger, A.L., The lithogenic index - A numerical
Heymsfield, S. expression for the relative litho-
et al. genicity of bile.
Gastroenterology 62: 499-501 (1972)

18. Thomas, P.J., A simple calculation of the litho-
Hofmann, A.F. genic index of bile: Expressing
biliary lipid composition on rect-
angular coordinates.
Gastroenterology 65: 698-700 (1973)

19. Small, D.M., Source of abnormal bile in patients
Rapo, S. with cholesterol gallstones.
N. Engl. J. Med. 283: 53-57 (1970)

20. Vlahcevic, Significance of the liver in the
Z.R., Bell, production of lithogenic bile in man.
C.C. et al. Gastroenterology 59: 62-69 (1970)

21. Wheeler, H.O. Secretion of bile acids by the
 liver and their role in the for-
 mation of hepatic bile.
 Arch. Intern. Med. 130: 533-541
 (1972)
22. Redinger, R.N., Bile composition, bile salt meta-
 Small, D.M. bolism and gallstones.
 Arch. Intern. Med. 130: 618-630
 (1972)
23. Metzger, A.L., Diurnal variation in biliary lipid
 Adler, R. composition: Possible role in
 et al. cholesterol gallstone formation.
 N. Engl. J. Med. 288: 333-336 (1973)
24. Bennion, L.J., Effects of obesity and caloric in-
 Grundy, S.M. take on biliary lipid metabolism
 in man.
 J. Clin. Invest. 56: 996-1011 (1975)
25. Bouchier, I. A. The aetiology of gallstones.
 D., Freston, J. Lancet 1: 340-344 (1968)
26. Heaton, K.W., Gallstones in patients with dis-
 Read, A.E. orders of the terminal ileum and
 disturbed bile salt metabolism.
 Br. Med. J. 3: 494-496 (1969)
27. Cohen, S., Liver disease and gallstones in
 Kaplan, M. regional enteritis.
 et al. Gastroenterology 60: 237-245 (1971)

35. Wheeler, M., Hills, L.L.
et al. Cholelithiasis: A clinical and dietary survey.
Gut 11: 430-437 (1970)
36. Sturdevant, R.A.L., Pearce, M.L.
et al. Increased prevalence of cholelithiasis in men ingesting a serum-cholesterol - lowering diet.
N. Engl. J. Med. 288: 24-27 (1973)
37. Grundy, S.M. Effects of polyunsaturated fats on lipid metabolism in patients with hypertriglyceridemia.
J. Clin. Invest. 55: 269-282 (1975)
38. DenBesten, L., Connor, W.E.
et al. The effect of dietary cholesterol on the composition of human bile.
Surgery 73: 266-273 (1973)
39. Sarles, H., Chabert, C.
et al. Diet and cholesterol gallstones.
Am. J. Dig. Dis. 14: 531-537 (1969)
40. Sarles, H., Hauton, J.
et al. Diet, cholesterol gallstones, and composition of the bile.
Am. J. Dig. Dis. 15: 251-260 (1970)
41. Vlahcevic, Z.R., Bell, C.C. et al. Bile-rich duodenal fluid as an indicator of biliary lipid composition and its applicability to detection of lithogenic bile.
Am. J. Dig. Dis. 16: 797-802 (1971)

42. Sperry, W., Revision of Schoenheimer-Sperry
Webb, M. method for cholesterol determination.
J. Biol. Chem. 187: 97-102 (1950)
43. Hurlock, B., Principles of the enzymatic
Talalay, P. measurement of steroids.
J. Biol. Chem. 227: 37-52 (1957)
44. Marcus, P.I., Induction and purification of α & β
Talalay, P. Hydroxysteroid dehydrogenases.
J. Biol. Chem. 218: 661-674 (1956)
45. Talalay, P. Enzymic analysis of steroid hormones.
Methods of Biochem. Analy. 8: 119-
143 (1960)
46. Turnberg, L.A., The quantitative determination of
Anthony-Mote, bile salts in bile using thin-layer
A. chromatography and 3α -Hydroxysteroid-
dehydrogenase.
Clin. Chim. Acta 24: 253-259 (1969)
47. Murphy, G.M., A fluorimetric and enzymatic method
Billing, B.H. for the estimation of serum total
et al. bile acids.
J. Clin. Path. 23: 594-598 (1970)
48. Schwarz, H.P., A simple method for the estimation
v. Bergmann, K. of bile acids in serum.
et al. Clin. Chim. Acta 50: 197-206 (1974)
49. Biss, K., Some unique biologic characteristics
Ho, K.J. et al. of the Masai of east Afrika.
N. Engl. J. Med. 284: 694-699
(1971)

50. Grundy, S.M., Mechanisms of lithogenic bile
Metzger, A.L. formation in American Indian women
et al. with cholesterol gallstones.
J. Clin. Invest. 51: 3026-3043
(1972)
51. Malhotra, S.L. Epidemiological study of chole-
lithiasis among railroad workers
in India with special reference to
causation.
Gut 9: 290-295 (1968)
52. Kameda, H. Gallstone disease in Japan.
Gastroenterology 46: 109-114 (1964)
53. Heschl, R., Blutlipide und Cholelithiasis.
Pristautz, H. Leber Magen Darm 4,1: 25-26 (1974)
54. Wood, P.D.S., Dietary regulation of cholesterol
Shioda, R. metabolism.
et al. Lancet 2: 604-607 (1966)
55. Sodhi, H.S., Plasma, bile and fecal sterols in
Wood, P.D.S. relation to diet.
et al. Metabolism 16: 334-344 (1967)
56. Mühlfellner, G., Die Wirkung des Äthylalkohols auf
Mühlfellner, O. die Plasmalipide isocalorisch er-
et al. nährter Versuchspersonen.
Z. Ges. Exp. Med. 154: 22-35 (1971)
57. Marin, G.A., Effect of ethanol on pancreatic
Ward, N.L. and biliary secretions in humans.
et al. Am. J. Dig. Dis. 18: 825-833 (1973)

58. Grundy, S.M., Regulation of biliary cholesterol
Mok, H.Y.I. secretion in man.
et al. In: The Liver: Quantitative Aspects
of Structure and Function. Ed.:
Preisig, R., Bircher, J., Paum-
gartner, G. S. 393-403 Editio
Cantor, Aulendorf, BRD (1975)
59. Osuga, T., Relationship between bile composi-
Portman, O.W. tion and gallstone formation in
Squirrel monkeys.
Gastroenterology 63: 122-133 (1972)
60. Lieber, C.S. Hepatic and metabolic effects of
alcohol (1966 to 1973).
Gastroenterology 65: 821-846 (1973)
61. Lefevre, A.F., Effect of ethanol on cholesterol
DeCarli, L.M. and bile acid metabolism.
et al. J. Lipid Res. 13: 48-55 (1972)
62. Weis, H.J., Influence of ethanol on cholesterol
Baas, E.U. synthesis.
In: The Liver: Quantitative Aspects
of Structure and Function.
Ed.: Preisig, R., Bircher, J., Paum-
gartner, G. S. 422-428 Editio
Cantor, Aulendorf, BRD (1975)
63. Weis, H.J. Persönliche Mitteilung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. H. J. Weis, für die überaus sorgfältige Betreuung meiner Arbeit.

Ferner danke ich Fräulein Ingrid Grünbauer für ihre labortechnische Unterstützung.

LEBENS LAUF (tabellarisch)

Name: Tilman Hafner
geboren am: 17. August 1951
Geburtsort: Darmstadt
Vater: German Hafner (Beruf: Professor
der klassischen Archaeologie)
Mutter: Erdmuthe Hafner, geb. Burkhard-
Meier

Schulischer
Werdegang: 1958-1962 Volksschule Mainz-
Gonsenheim
1962-1970 Rhabanus-Maurus-Gymnasium
Mainz
1970 Abitur

Studiengang: WS 70/71 Immatrikulation an der
Johannes Gutenberg-Universität,
Mainz, für das Fach Medizin
WS 71/72 naturwiss. Vorprüfung
SS 1973 ärztliche Vorprüfung
SS 1977 ärztliche Prüfung

Seit 1. 9. 77 tätig als Medizinal-
assistent an der II. Med. Klinik in
Mainz

